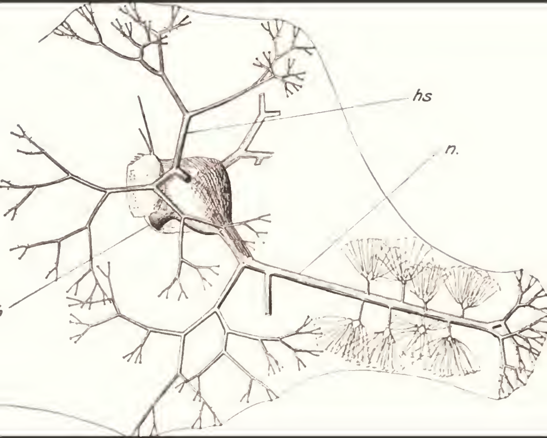


Archiv für Protistenkunde

Archiv

für

Protistenkunde

begründet von

Dr. Fritz Schaudinn,

herausgegeben

von

Dr. M. Hartmann und **Dr. S. von Prowazek**
Berlin. Hamburg.

Neunter Band.

Mit 18 Tafeln und 100 Textfiguren.

JENA.
Verlag von Gustav Fischer.
1907.

Inhaltsübersicht.

Erstes Heft.

Zweites und drittes Heft.

(Aus dem Zoologischen Institut München.)

Der Entwicklungskreis von *Allogromia* sp.

Von
Hans Prandtl.

(Hierzu Tafel 1 und 5 Textfiguren.)

Wie ich schon bei der Schilderung des Degenerationsprozesses von *Amoeba proteus* bemerkte, war eine der Amöbenkulturen im Herbst 1905 gleichzeitig von einem einzelligen, Gameten bildenden Parasiten befallen. Da ich jedoch damals die Untersuchung über den Entwicklungskreis dieses Parasiten nicht abschließen konnte, mußte ich eine Wiederholung der Infektion abwarten. Es stellte sich nämlich heraus, daß das Tier im vegetativen Zustand nicht parasitierte, sondern ein freilebender Rhizopode war und nur zur Gametenbildung in die Amöben kroch. Nachdem ich die vegetative, freilebende Form des Tieres den ganzen Winter über weitergezüchtet hatte, hatte ich im Frühjahr 1906 des öfteren die Freude, an Gameten bildenden Tieren meine Beobachtungen vervollständigen zu können.

Bevor ich den Entwicklungscyklus des zeitweiligen Parasiten schildere, möchte ich erst seine vegetative Form abhandeln, da ich von dieser trotz ihrer anscheinenden Häufigkeit, wohl wegen ihrer geringen Größe, in der Literatur keine Beschreibung finden konnte. Ihrem Habitus nach gehört sie zu den Süßwassertestaceen, und zwar zur Gattung *Allogromia* (Rhumbler 1903). Ihre Schale ist eiförmig mit schwach variierendem Längen-Breitenverhältnis, im Querschnitt kreisrund, vollkommen durchsichtig und strukturlos. Bei lebenden Tieren ist sie selten gelblich, öfters dagegen, wenn der Weichkörper abgestorben ist. Anorganische Ein- oder Anlagerungen

der ohnehin sehr kräftigen, starren Schale habe ich nie beobachtet. Am spitzen Pol liegt central eine einzige, nicht sehr große, runde Schalenöffnung ohne jede Andeutung einer halsartigen Verlängerung der Schale (Fig. 1, ebenso Fig. 2, schräg nach unten gekehrt). Entlang der Öffnung scheint der Schalenrand schwach verdickt zu sein. Die Länge der Schale beträgt im Mittel 18 μ. Doch kommen häufig Abweichungen hiervon nach oben und unten vor. So sind die Allogromien der Fig. 3 u. 4 extrem groß. Als größtes Maß fand ich eine Länge von 23,5 μ.

Das Protoplasma ist äußerst feinkörnig, klar und durchsichtig-farblos. Bei Anwendung schwacher Systeme ist deshalb oft nur die Schale zu sehen. Als Einschlüsse beobachtete ich kleine Algen und Diatomeen, doch scheint die Hauptnahrung in verwesenden organischen Substanzen zu bestehen.[1] Das Plasma füllt entweder den ganzen Binnenraum der Schale aus (Fig. 1 u. 2), oder es quillt bis zur Hälfte aus ihr heraus (Fig. 3), sich mit zarten Plasmafäden in ihr verankernd. Diese Plasmafäden sind auch am lebenden Tier prachtvoll zu sehen. Sitzt das Tier in Detritusmassen, die ihm am meisten zu behagen scheinen, halb vergraben, so sieht man selten Pseudopodien, sondern das Plasma fließt in breiten Lappen aus der Schale hervor (Fig. 1 u. 3). Ist das Tier dagegen auf der Suche nach Nahrung, so streckt es äußerst zarte, hyaline Pseudopodien aus, welche das Dreifache der Schalenlänge erreichen können. Sie sind sehr beweglich, führen ziemlich rasche kreisende Bewegungen aus, knicken plötzlich an einer Stelle ab und können sehr rasch ihre Form und Zahl ändern. Sie besitzen ihrer ganzen Länge nach eine ziemlich gleichmäßige Breite und sind an ihren Enden abgerundet (Fig. 2). Sie bewegen den Körper gleichmäßig gleitend ohne Ruck von der Stelle. Die Schalenöffnung kann dabei rechtwinklig zur Bewegungsrichtung gestellt sein. Als durchlaufene Strecke wurden pro Minute 20 μ gemessen, also mehr, als die Körperlänge des Tieres beträgt. Am Grund der Schale findet sich in der Nähe des Kernes eine kontraktile Vakuole, welche in fast genau einer Minute pulsiert. Doch sah ich auch ein Tier mit zwei kontraktilen Vakuolen zu beiden Seiten des Kernes, welche je 2 Minuten Pulsationszeit hatten, aber nicht gleichzeitig zusammenklappten. Der große Kern, der auch im Leben stets leicht in der Mitte des Schalengrundes zu finden ist, besteht aus einem centralen chromatischen Nukleolus, meist mit einer oder zwei hellen Vakuolen und einem achromatischen Netzwerk.

[1] Herr Dr. Doflein züchtete die Tiere auf reinem Algenrasen. Sie gediehen hierbei sehr gut und nahmen verhältnismäßig große Algen in sich auf.

das gewöhnlich in der unmittelbaren Umgebung des Nukleolus sehr weitmaschig ist, weiter nach der Kernmembran zu dagegen engmaschig. Die Alveolenwand, welche die weiten und engen Maschen trennt, ist häufig so gespannt, daß sie als eine zweite Kernmembran innerhalb der eigentlichen Membran erscheint (unterer Kern der Fig. 4). Der Kernmembran sieht man oft schon im Leben ziemlich stark lichtbrechende Körnchen anliegen (Fig. 1), die bei der Färbung stark chromatisch erscheinen (Fig. 3 u. 4). Es sind die bei so vielen Süßwassertestaceen (*Arcella, Chlamydophrys, Centropyxis, Difflugia, Euglypha*) nachgewiesenen Chromidien. Sie sind verschieden stark ausgebildet, besonders nach längerer, vegetativer Vermehrung erfüllen sie oft einen großen Teil des im Schalenfundus befindlichen Protoplasmas. Für die Entstehung der Chromidien aus dem Kern der *Allogromia* dürfte Fig. 5 sprechen, in der viele Chromatinpartikelchen in Wanderung vom Nukleolus zur Kernmembran begriffen sind. Die Membran selbst ist infolge des ihr innen und außen dicht anliegenden Chromatins undeutlich. Zweikernige (Fig. 4) oder auch dreikernige Tiere kommen vereinzelt vor, sie sind größer als die einkernigen. Ihre Entstehung konnte ich nicht verfolgen. Eine Verklumpung mehrerer Tiere nach Art der *Microgromia socialis* konnte ich niemals beobachten. Von Teilungsstadien habe ich nur sehr spärliches Material. Sie scheint analog den übrigen bisher beschriebenen Fällen von Teilung bei beschalten Süßwasserrhizopoden vor sich zu gehen. Fig. 6 stellt in Konturen den sich bereits durchschnürenden Plasmakörper einer *Allogromia* dar, der Kern ist erst in Wanderung nach der Teilungsebene begriffen. Am Nukleolus sind keinerlei Umgestaltungen zu bemerken; er scheint sich demnach amitotisch zu teilen. Die Schalenverhältnisse des Tieres konnte ich leider nicht verfolgen, da die Schalen in Nelkenöl entweder ganz verschwinden, wie im vorliegenden Fall, oder zerknittern. An einem lebenden Tier sah ich einmal, leider nur bei schwacher Vergrößerung, einen Kern in weniger als 5 Minuten sich lang ausdehnen, die Tochterstücke an die Basis der beiden Plasmaleiber rücken und die lange Verbindungsbrücke abreißen. Aus dieser Schnelligkeit der Teilung erklärt sich, warum ich auch in Präparaten aus reich besetzten Kulturen nur ungenügendes Material von Teilungsstadien fand. Aus einem Präparat von lange gezüchteten Tieren stammt ebenso wie Fig. 5 auch Fig. 7. Sie stellt einen Kern in typischer Depression dar. Der Chromatinnukleolus hat sich in zwei Portionen geteilt, den Raum des achromatischen Kerngerüstes füllt eine ziemlich stark chromatische, vakuolisierte Masse aus. Die Kernmembran

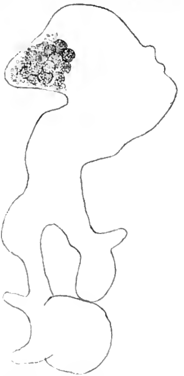
ist teilweise aufgelöst, so daß an dieser Stelle der Kern und das ebenfalls stark vaknolige Plasma ohne Grenze ineinander übergehen. Vor dem Absterben verlassen die Tiere ihre Schale und kriechen amöbenartig umher. Bei der Encystierung scheidet die *Allogromia* außerhalb ihrer Schale noch eine zweite gallertig aussehende, hyaline Hülle ab, der Plasmakörper kugelt sich ab und nimmt nur mehr etwa die Hälfte des Schalenraumes ein.

Wegen der Benennung der beschriebenen *Allogromia* mit einem Speziesnamen bin ich in einiger Schwierigkeit. Durch die Freundlichkeit Herrn Dr. Doflein's wurde ich darauf aufmerksam gemacht, daß Metschnikoff in seinen „Leçons sur les inflammations" einen Parasiten aus *Amoeba proteus* beschreibt und mit einem Namen belegt, bei dem es sich mit einiger Wahrscheinlichkeit um dasselbe Objekt handelt wie im vorliegenden Fall. Da ich das Buch jedoch nicht erhalten konnte, muß ich einstweilen darauf verzichten, der *Allogromia* einen Speziesnamen zu geben.

Die geschlechtliche Fortpfanzung. Tötet man in einer Kultur zur Zeit einer geschlechtlichen Epidemie die noch übrig gebliebenen vegetativen Formen ab, so findet man in diesen einen sehr starken Chromidiengehalt des Plasmas, die Tiere verlassen ihre Schale und suchen nach Möglichkeit irgend ein anderes Protozoon auf, um innerhalb desselben ihre geschlechtliche Generation, die Gameten, zu erzeugen. Mein weitaus größtes Untersuchungsmaterial für das Studium dieses Prozesses lieferte mir eine Kultur von *Amoeba proteus*, welch letztere an Degeneration krankte und infolgedessen um so leichter ein Opfer der Allogromien wurde, die während ihrer vegetativen Zeit umgekehrt von *Amoeba proteus* gefressen wurden. Eine Infektion der Amöben erzielte ich sowohl im Herbst 1905 als auch im Frühjahr 1906. Außerdem wurden die Gameten bildenden Allogromien auch noch bemerkt in *Arcella*, *Nuclearia* (Fig. 8), ja selbst in *Paramaecium*. Von letzterem weiß ich allerdings nicht, ob es nicht bei der Infektion schon abgestorben war. Im Frühjahr 1906 erhielt zuerst Herr Dr. Marcus beim Anfertigen eines Präparates aus einer Kultur, die den ganzen Winter überdauert hatte, auch Bilder, die zeigten, daß die Allogromien in Ermangelung geeigneter Wirtstiere auch im freilebenden Zustande Gameten bilden können. Ich fand diese interessante Beobachtung später noch mehrfach bestätigt. Die Schädigung, welche das Wirtstier durch die Infektion erleidet, scheint verhältnismäßig nicht sehr groß zu sein. Ich habe Präparate von *Amoeba proteus*, die nur noch wenige nicht ausgeschwärmte Gameten enthalten, die also den

ganzen Infektionsprozeß hinter sich hatten und trotzdem keine pathologischen Veränderungen zeigten. Die Fig. 18 u. 22 stellen gewiß stark infizierte Amöben vor, nichtsdestoweniger waren aber beide beim Abtöten in lebhafter Pseudopodienbildung begriffen. Die Amöbe der Fig. 18 hatte sogar noch einen Futterkörper. Wenn Amöben trotzdem absterben, so wird dabei wohl der von den eingedrungenen Parasiten unabhängige degenerative Zustand der Tiere eine große Rolle spielen.

Meine ersten Beobachtungen machte ich am lebenden Objekt. Ich benutzte zu diesem Zwecke eine infizierte Amöbe, die im hängenden Tropfen kultiviert wurde. Leider mußte ich, um die Amöbe auf diese Weise längere Zeit halten zu können, den Tropfen so groß nehmen, daß ich meine Beobachtungen nur mit Leitz' Objektiv 5 machen konnte. Ehe die Gameten gebildet waren, konnte ich auf diese Weise nur zahlreiche homogene, helle, runde Kugeln im Plasma der Amöbe sehen. Wieviel Tage die Reifungszeit der Gameten etwa in Anspruch nimmt, kann ich nicht angeben, da ich leider vergaß, hierüber Aufzeichnungen zu machen. Auf jeden Fall vergingen über den Prozeß mehrere Tage. Am 13. November war der Inhalt der hellen Kugeln in zahlreiche Körnchen zerfallen, die Amöbe war ganz mit solchen körnchenhaltigen Kugeln erfüllt, wie es in Textfig. 1 teilweise eingezeichnet ist. Eine getreue Wiedergabe der ganzen Amöbe mit ihren Parasiten erlaubte ihre ganz außergewöhnliche Beweglichkeit nicht. Beim Umherfließen des Plasmas stauten sich die Kugeln mit ihrem körnigen Inhalt vor jeder Verengerung des Plasmaleibes der Amöbe. Sie waren starr und unnachgiebig; daher konnten sie auch nicht in die feinsten Pseudopodien vordringen.


Textfig. 1.

Am 15. November mußte ich das stark verdunstete Wasser im hängenden Tropfen durch Zusatz von neuem Wasser ergänzen, doch

genügte diese Erschütterung, um die Amöbe mit einem Ruck zum Platzen zu bringen. Aus ihr heraus ergoß sich eine Wolke, bestehend aus unendlichen Mengen der kleinen runden Körnchen, die sich augenblicklich gleichmäßig im ganzen Tropfen verbreiteten (Textfig. 2a). Es waren die aus ihrer Hülle befreiten Gameten. Von der *Amoeba proteus* blieb nichts weiter übrig als das Ektosark. Die Gameten blieben etwa eine Viertelstunde ruhig liegen,



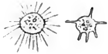
a b
Textfig. 2.

dann setzten leise zitternde Bewegungen ein, die schnell stärker wurden. Schon wenige Minuten später konnte ich in dem Geflimmer öfters je zwei Gameten mit einander verkleben und verschmelzen sehen (Textfig. 2b). Schließlich streckten sich die Gebilde in die Länge und bewegten sich wackelnd im Zickzack mittels eines Flagellums, wie ich bei der schwachen Vergrößerung sah. Im Innern war eine kontraktile Vakuole sichtbar. Erst an einem später gewonnenen Material beobachtete ich den Bau der aus den kopulierten Gameten entstandenen Flagellaten genauer. Wegen der Kleinheit der Objekte (die Flagellaten betragen durchschnittlich 4 μ in der Länge) mußte ich darauf verzichten, sie mittels Zeichnungsapparat wiederzugeben. Fig. 21 ist mit freier Hand sehr stark vergrößert gezeichnet. Der Flagellat ist ein unzweifelhafter Heteromastigode mit einer starken Schleppgeißel, die in der vorderen Tierhälfte, soviel ich erkennen konnte, in einer seitlichen Vertiefung entspringt, dann nach hinten umbiegt und mit ihrem freien Ende das Tier an der Unterlage meist fest verankert. Das zweite, neben der Schleppgeißel entspringende Flagellum, das mir bei der ersten Beobachtung entgangen war, ist äußerst zart und stets in so heftiger Schwingung, daß ich seine Länge nicht genau feststellen konnte. Es bewirkt die wackelnden Bewegungen des Tierkörpers; gibt die Schleppgeißel ihren Stützpunkt auf, so schnellt sich das Tier mit einem plötzlichen Ruck um viele Körperlängen fort, um sich aufs neue festzusetzen oder auch einige Zeit wackelnd frei zu schwimmen. Nach hinten von der Ursprungsstelle der Geißeln liegt die kontraktile Vakuole, die nicht ganz 15 Sekunden von einer Systole zur nächsten braucht. Der Kern ist im Leben nicht sichtbar, doch fand ich ihn auf Präparaten in der Mitte des Körpers liegen. Er besteht ebenso wie die Kerne der Allogromien und Gameten aus einer großen achromatischen Blase mit Chromatinnukleolus. Den hinteren Abschnitt des Flagellatenkörpers erfüllen gröbere Körnchen, anscheinend Nahrungsbestandteile, aus. Die Tiere hielten sich, wohl aus Sauerstoffbedürfnis, am liebsten am Rande des Tropfens auf. Mehrere Tage konnte ich

an der Unmenge der Flagellaten keine Veränderungen bemerken, bis ich am 20. November eine große Anzahl kleiner Amöben sah, welche meist dieselbe Größe wie die Flagellaten besaßen, teils aber auch schon größer waren (Textfig. 3). Ihre oft ziemlich langen Pseudopodien waren vollkommen hyalin und führten ziemlich rasche, häufig auch kreisende Bewegungen aus, wie die Pseudopodien der Allogromien. Im Innern der größeren Tiere waren Vakuole und Kern sichtbar. Am 22. November waren schon viele Amöben stark herangewachsen und ein Teil davon hatte eine Allogromienschale



Textfig. 3.



Textfig. 4.

bekommen. Am 24. November waren alle größeren Amöben verschwunden, dafür hatte die Zahl der Allogromien sehr stark zugenommen, einige von letzteren hatten Cysten gebildet. Bemerken muß ich noch, daß ich und ebenso Herr Dr. Marcus unter den kleinen Amöben öfters heliozoenartige Exemplare traf, welche äußerst zarte Pseudopodien radial nach allen Richtungen ausstreckten (Textfig. 4). Ob diese Tiere aber wirklich zu den Allogromia-Amöben gehören, kann ich nicht sicher behaupten.

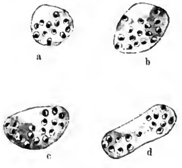
Mit meinen Befunden über die Kopulation der Gameten und ihre Verwandlung in Flagellaten übereinstimmende Beobachtungen machte im Frühjahr 1900 Herr Dr. Marcus. Herr Dr. Marcus beobachtete an den Flagellaten auch Längsteilung, welche vom Hinterende begann. Man sieht in der Kultur stets auch alle Übergänge von schmal lanzettlichen Tieren zu dickbauchigen. Durch öfteres Isolieren weniger Flagellaten konnte konstatiert werden, daß sie sich etwa 10 Tage lang stark vermehrten, alle aus ihnen entstehenden kleinen Amöben gingen jedoch nach kurzer Zeit zugrunde, da sie wohl infolge der zu sauberen Isolierung keine geeignete Nahrung fanden. Einige Flagellaten hielten über einen Monat aus.

Bei der Schilderung der Veränderungen im Kernapparat der Allogromia, welche zur Gametenbildung führten, kann ich mich nicht auf Beobachtungen am lebenden Tier stützen, da sich die infizierten Amöben zu rasch fortbewegten, sondern ich habe den Entwicklungsgang ausschließlich aus fixiertem Material kombiniert. Als Fixationsmittel wurde Pikrinessigsäure benutzt, zum Färben zeigte sich nach

verschiedenen Proben die Heidenhain'sche Methode als die geeignetste. Untersucht wurden die Tiere auf Totalpräparaten innerhalb der Amöben in Nelkenöleinschluß.

Fig. 9 zeigt sechs verschieden große Allogromien ohne Schale frisch in eine *Amoeba proteus* eingedrungen. Sie lassen bereits die ersten Veränderungen im Chromatin erkennen. Ein sehr starkes Chromidialnetz umlagert den Kern, dessen Nukleolus in viele Zipfel ausgezogen ist, welche teilweise bis an den Chromidialring heranreichen. Ich glaube diese unregelmäßige Gestalt als ein Zeichen lebhafter Chromatinabgabe seitens des Nukleolus an das Plasma ansehen zu dürfen. Ein eben eindringendes Tier in amöboidem Zustand, das bereits etwas weiter fortgeschritten ist als die Allogromien der Fig. 9, zeigt uns Fig. 10 bei stärkerer Vergrößerung. Von einer Kernmembran und einer achromatischen Zone des Kerns ist nichts mehr zu sehen, der Nukleolus fließt in das Chromidialnetz über. Letzteres hat sich, pseudopodienartige Fortsätze ausstreckend, schon weit im Plasma ausgebreitet. Ein ähnliches Stadium gibt Fig. 11, die einem nicht parasitären Tier entnommen ist. Die *Allogromia* besitzt gleichfalls keine Schale, der Nukleolus ist noch etwas kompakter als in Fig. 10. Die in den Fig. 10 u. 11 gezeichneten Tiere stammen aus einer Kultur, in der sich nur wenige *Amoeba proteus* neben unzähligen Allogromien befanden, weshalb die Allogromien eine starke Tendenz zeigten, freilebend Gameten zu bilden. In Fig. 12 sehen wir bereits das ganze Plasma von Chromatin erfüllt. An vielen, gleichmäßig verteilten Punkten haben sich Konzentrationsherde für die Chromidien gebildet. Eine Zählung dieser Ansammlungspunkte war mir nicht möglich. Vom Nukleolus des alten Kernes ist noch ein ansehnlicher Rest vorhanden. Die Allogromia parasitierte ebenso wie alle in den folgenden Abbildungen wiedergegebenen Tiere in *Amoeba proteus*. In Fig. 13 sind die neugebildeten Chromatinklumpen (Sekundärkerne), soweit ich bei dem ungeheuren Chromatinreichtum des Plasmas erkennen kann, sämtlich hantelförmig durchschnürt: sie sind offenbar in Teilung begriffen. Von einem Rest des alten Kernes kann ich nichts mehr erkennen. In Fig. 14 hat sich um jedes der Chromatinklümpchen eine zarte Membran gebildet, so daß wir nunmehr eine Menge kleiner, typischer Kerne mit achromatischem Raum und Chromatinnukleolus vor uns haben. Die Mitte des Tieres nimmt noch ein Rest des alten Kernes ein, während die kleinen Kerne den ganzen peripheren Teil des kugeligen Plasmas erfüllen. Ihre Zahl beträgt über 30. Der Zeitpunkt, auf dem der letzte Überrest des alten Nukleolus verschwindet,

scheint, nach den Fig. 13 und 14 zu schließen, ziemlich variieren zu können. Ich bin nicht sicher, ob er ganz im Plasma aufgelöst wird, oder ob er nicht vielleicht ausgestoßen wird. Bei parasitierenden Allogromien ist dies wegen möglicher Verwechslungen mit Futterkörpern nicht sicher zu entscheiden; bei zwei freilebend Gameten bildenden Tieren schien mir außerhalb des Körpers, ihm dicht anliegend, je ein kernartiges Gebilde zu liegen, doch kann auch hier leicht eine Täuschung durch Fremdkörper vorliegen. Ich möchte mich mehr der Ansicht zuneigen, daß der alte Kern ganz im Plasma aufgelöst wird. An Tieren, bei denen die Sekundärkerne bereits Membranen hatten, konnte sehr häufig eine Körperteilung beobachtet werden, Fig. 15. Verschiedene Phasen einer solchen Teilung stellt Textfig. 5 dar (nach fixiertem Material, daher Beeinflussung durch Schrumpfung nicht ausgeschlossen). Ich glaube nicht, daß diesen Körperteilungen eine weitere Bedeutung zukommt als die, durch Verteilung der Masse bessere Ernährungsbedingungen für sie zu schaffen. Daher sind die Teilungsprodukte auch absolut nicht gleichwertig, wie z. B. in Fig. 15 das eine nach annähernder Zählung etwa 23 Sekundärkerne enthält, das andere nur 10.



Textfig. 5.

Kernteilungen konnte ich außer dem in Fig. 13 wiedergegebenen Falle auch bei Tieren mit bläschenförmigem Kern beobachten, doch verläuft hier die Teilung ebenso amitotisch durch Einschnürung des Nukleolus. Ob im ganzen zwei solcher wohl als Reifeteilungen aufzufassenden Teilungen stattfinden, war mir unmöglich, nachzuweisen. Für ein Stadium kurz vor dem Zerfallen des ganzen Plasmas in die Gameten halte ich das der Fig. 16. Die Chromatinnukleoli haben sich sichelförmig den Kernmembranen angelegt, als wollten sie an ihr entlang sich ausbreiten. Wir dürften hier ein Übergangsstadium zu dem im reifen Zustand der Gameten häufig anzutreffenden Zustand vor uns haben, wo das Chromatin in feinen Körnchen im Kernretikulum verteilt ist. Auf den nun folgenden Stadien ist es unmöglich, die Allogromien in toto zu färben. War nämlich bisher der Körpersaum genau so durchlässig wie bei jedem anderen Rhizopoden, so wird er jetzt durch Ausscheidung einer Cystenhülle völlig

undurchdringlich für Farbstoffe. Er färbt sich mit Boraxkarmin nur leicht gelblich. Ein Schnitt durch ein solches Tier (Fig. 17) zeigt uns, daß das Plasma in ebenso viele Teile zerfallen ist, als Sekundärkerne vorhanden sind, und daß es sich kugelig um letztere zusammengeballt hat. Ein Restkörper war nicht zu bemerken. Sind die Gameten fertig gebildet, so wird anscheinend die Hülle des Muttertieres resorbiert, wenigstens kommen die Gameten frei ins Plasma der Amöbe zu liegen, ohne daß Reste der alten Membran zu sehen wären. Durch ihre Auflösung werden die Gameten wieder färbbar, sie liegen anfangs noch in runden oder elliptischen Klumpen zusammen wie in der Mutterhülle (Fig. 18), verteilen sich dann aber durch das ganze Plasma des Wirtes. Dabei nehmen sie an Volumen zu, wie ein Vergleich der Fig. 17 u. 19 ergibt, die bei gleicher Vergrößerung gezeichnet wurden. Nun kommt der alveoläre Bau des Plasmas klar zum Vorschein, und in ihm eingestreut liegen zahlreiche chromatische Teilchen. Eine besondere Membran konnte ich an den Gameten nicht nachweisen. Die Bilder der Fig. 20 glaube ich für Kopulationsstadien ansprechen zu müssen. Zwei wohl nur zufällig etwas verschieden große Gameten sind einander bis zur Berührung genähert. Daneben liegt ein zweikerniger Gamet. In der ganzen Amöbe finde ich nur vier einkernige Gameten, darunter die zwei abgebildeten, und drei zweikernige, alle anderen sind bereits ausgeschwärmt. Außer diesem und einem anderen, fast ebenso beschaffenen Fall konnte ich nie zweikernige Gameten innerhalb der Amöbe beobachten, so daß es sich hier sehr wahrscheinlich um Copulae aus Nachzüglern handelt, die sich beim Ausschlüpfen verspäteten.

Ich möchte zu meinen Bildern noch das eines alten Amöbenpräparats des Münchner Instituts hinzufügen, da hier das Tier einen geradezu unglaublichen Infektionsgrad erreicht hat (Fig. 22). Die Gameten haben bereits ihre Hüllen verlassen und beginnen sich zu zerstreuen. Trotz der gewaltigen Verseuchung ist die Amöbe noch imstande gewesen, zahlreiche Pseudopodien nach allen Richtungen zu senden. Ich bin nicht sicher, ob es sich hier um denselben Parasiten handelt wie bei meinen Amöben. Die Färbung des Präparats ist für den Zweck zu ungünstig, um von den Gameten mehr als rote Flecken erkennen zu lassen: nur hier und da ist in ihnen ein heller Punkt, wohl der Kern, zu sehen.

L i t e r a t u r: Die von mir geschilderten Vorgänge der Gametenbildung der Allogromia innerhalb von *Amoeba proteus* wurden bereits des öfteren in Bruchstücken beobachtet, doch meist verkannt und

für eine geschlechtliche Fortpflanzung der *Amoeba proteus* gehalten. Die Parasiten wurden dabei immer für Kerne der Amöbe gehalten. Dieser Irrtum ist sehr erkärlich, da das ganze Plasma der Gameten bildenden *Allogromia* nach der Auflösung des Kernes so chromatisch ist, als bestände es nur aus Kernsubstanz. Die äußere Begrenzung des Tieres ist so zart, und das Plasma der Amöbe liegt ihr so dicht an, daß man sie ebensogut für eine Kernmembran halten kann. Die Körperteilungen wurden mit Kernteilungen verwechselt. Die Unmöglichkeit der Annahme früherer Autoren erhellt schon daraus, daß die Gameten, welche aus den „Fortpflanzungskernen“ entstehen, aus Kern u n d Protoplasma bestehen. Es müßte hier also aus reiner Kernsubstanz ein ganzes Tier, also auch das Protoplasma, gebildet werden; doch liegt bis jetzt kein Grund zu einer solchen Annahme vor.

Carter (63) sah aus einer *Amoeba princeps* (= *proteus*) mit einem Geschlechtskern (nach seiner Abbildung eine Allogromia mit Kern in Auflösung) eine zweikernige entstehen. Er fand in verschiedenen Tieren die verschiedensten Kernzahlen bis zwischen 64 und 80. Er betont, daß ihre Zahl nicht immer ein Vielfaches von zwei beträgt. Sie sind rund oder elliptisch. Anfangs sind sie halbdurchsichtig und homogen, später werden sie granuliert und besitzen eine deutliche Kapsel. Die Kapseln sind rund, semiopak und stark lichtbrechend. Carter konnte in solchen Tieren niemals normale Amöbenkerne finden. Das ist auch sehr verständlich, da Carter nur lebendes Material untersuchte, und der Kern selbst an gefärbten Präparaten nicht besonders hervortritt, wie Fig. 18 zeigt. Das Ausschwärmen der Gameten wurde von Carter nicht beobachtet.

Im gleichen Jahre machte Wallich (63) an *Amoeba villosa* ähnliche Beobachtungen. Da bei seinen Amöben nur eine schwache Infektion (6—12 Parasiten) vorlag, konnte er den unveränderten Amöbenkern meistens auch sehen. Er hält die Parasiten für sperm cells, die Amöbenkerne für germ cells. Er hatte wohl nur gereifte Sporen mit aufgelöster Membran vor sich, da er als Merkmale für die sperm cells den Mangel einer Membran und eines Nukleolus angibt. Auf Druck kamen die Gameten aus der Amöbe heraus und führten zitternde Bewegungen aus, um bald darauf still zu werden (wahrscheinlich abzusterben).

Greeff (66) sagt, daß aus *Amoeba terricola* runde Körper austreten, welche zu winzigen Amöben werden. Die runden Körper entstehen aus einer feinen Granulation im Plasma, welche angeblich aus dem Kern stammt. Für diese letztere Behauptung hat Greeff

aber nicht versucht, einen Beweis zu erbringen. Greeff hatte wohl reife im Plasma verteilte Gameten irgend eines der *Allogromia* verwandten Rhizopoden.

Ich glaube auch die Calkins'schen (04) Angaben über eine geschlechtliche Generation bei *Amoeba proteus* in dem Sinne deuten zu müssen, daß es sich um einen der *Allogromia* mindestens nahe verwandten Parasiten, wenn nicht um sie selbst handelt. Calkins hatte nur konserviertes Material zur Verfügung und war bloß auf Kombinationen seiner Bilder angewiesen. Diese scheinen mir nicht sehr glücklich zu sein. Er selbst faßt seine Resultate folgendermaßen zusammen: „The single nucleus divides by mitosis, these daughter-nuclei in turn divide in the same way, and so on until the descendants of the first nucleus number sixty or seventy. Before this number is reached, however, the nuclei begin to disintegrate or break up into chromatin granules, and these become distributed throughout the cytoplasm. One after another of the nuclei break up in this way until there are only one or two of the large „primary“ nuclei left, while the cytoplasm is now filled with minute particles of chromatin. Many of these particles, if not all, become minute nuclei, and as such, divide by a form of mitosis which is common to the flagellated protozoa, that is, to the centronucleus type. Ultimately these metamorphose into definite nuclei of a common type and the entire cell then encysts. One, at least, of the large nuclei remains unused and can be seen in the encysted stage with undiminished size and characteristic form.“ Calkins' Bilder sind zu ungenügend und zu fragmentarisch, um seine Behauptungen zu beweisen. Mit den schönen Teilungsfiguren des Kernes von *Amoeba proteus*, welche in der Zwischenzeit von Awerinzeff (06) gegeben wurden, haben Calkins' angebliche Teilungsfiguren nichts gemeinsam. Für verschiedene seiner Bilder finde ich Analoga bei den meinen. So könnten seine Fig. 24 u. 27 Taf. III meiner Fig. 14 entsprechen, seine Fig. 20 Taf. III meiner Fig. 17; die Teilung, welche er von seinen Sekundärkernen abbildet, ähnelt sehr der der Sekundärkerne der *Allogromia*, nachdem sie eine Membran erhalten haben. Sehr auffallend ist an den Calkins'schen Befunden, daß ein alter Amöbenkern unverändert erhalten bleibt, und daß das Plasma während des Fortpflanzungsprozesses ebenso seine Pseudopodien bildet wie im vegetativen Zustand. Das dürfte allein schon zur Vorsicht mahnen.

Glaube ich schon in den angeführten Arbeiten eine teilweise Bestätigung für die Richtigkeit meiner Ansichten erblicken zu

können, so möchte ich doch auch noch darauf hinweisen, daß auch bei anderen, meiner *Allogromia* verwandten Rhizopoden entsprechende Beobachtungen vorliegen und zwar von E. Buck (73) an der Süßwassermonothalamie *Phonergates vorax*, sowie an einem Rhizopoden (sive Flagellaten), den Buck für identisch mit *Pseudospora parasitica* hält, ferner von Schaudinn (03) hauptsächlich bei *Chlamydophrys stercorea* und von M. Robertson (05) bei *Pseudospora volvocis*.

Phonergates vorax ist nach Bütschli identisch mit *Lecythium hyalinum* (H. u. L.). Von meiner *Allogromia* unterscheidet er sich durch den Besitz einer biegsamen, im Leben kaum sichtbaren Schale von kugeliger Form mit halsförmiger Verlängerung und durch die bedeutendere Größe der Tiere, die im ausgewachsenen Zustand 30 μ lang sind. Im übrigen zeigen *Phonergates vorax* und meine *Allogromia* außerordentlich viele Übereinstimmungen. *Allogromia* lebt für gewöhnlich frei und nährt sich von kleinen Algen, liebt aber auch eine saprophytische Lebensweise, wenn ihr in Gestalt eines abgestorbenen Protozoons Gelegenheit hierzu geboten wird. Zur Zeit der Gametenbildung wird sie nach Möglichkeit zum vollendeten Parasiten. *Phonergates vorax* nährt sich im freilebenden Zustand von großen Diatomeen, parasitiert aber auch gerne in Protozoen, Rotatorien und niederen Crustaceen, die er ganz ausfrißt, desgleichen in Wasserpflanzen. Dagegen findet die Gametenbildung, wenigstens in dem einen Fall, den Buck sah, im freilebenden Zustand statt, wozu ja auch *Allogromia* die Fähigkeit besitzt, wie wir sahen. Buck beschreibt den Vorgang folgendermaßen: Nach dreiwöchiger Kultur nahmen die Tiere keine Nahrung mehr auf und wurden gelblich. Ein isoliertes solches kugeliges Tier besaß einen Kern und eine große Vakuole. „Am folgenden Vormittag war der Nukleus nicht mehr sichtbar, an dessen Stelle aber lag ein runder, scharf begrenzter Haufen von feinen Körnchen, womit jedoch auch die übrige Körpermasse erfüllt schien, wie bei *Amoeba terricola* (Greeff). Der Kern mußte offenbar in eine Menge von Teilstücken zerfallen sein.“ „Gegen 12 Uhr mittags fand die Entleerung eines Teiles der Körnchen statt, welche außerhalb des Muttertieres eine lebhafte Bewegung erkennen ließen.“ Innerhalb einer Stunde waren sämtliche Körnchen entleert und sie „schwammen längere Zeit an ihrer Geburtsstätte in tanzender, langsamer Bewegung umher. Geißelfäden vermochte ich wegen der Kleinheit der Objekte nicht zu erkennen“. Buck ließ einen Teil der Sporen von einer Oxytriche und einer *Lepadella ovalis* fressen und erhielt angeblich aus diesen Sporen, welche die fremden Körper passiert hatten, in 10 Tagen junge

Monothalamien. Die nicht verschlungenen Sporen sammelten sich in Haufen kleiner runder Scheibchen, welche heranwuchsen und in 14—18 Tagen sich in kleine Amöben umwandelten. Nachdem sie ein Heliozoenstadium durchgemacht hatten, verschmolzen mehrere Tiere und schieden eine Schale aus. Es liegt demnach bei *Phonergates vorax* derselbe Prozeß vor wie bei *Allogromia*, nur daß Buck die Kopulation der Gameten nicht beobachtete. Da die Körnchen tanzende Bewegungen ausführten, besaßen sie sicherlich auch Geißeln.

Der zweite Rhizopode, dessen Entwicklungsgeschichte Buck untersuchte, *Pseudospora parasitica* (?), weist ebenso wie *Allogromia* und *Phonergates* auf Wechselbeziehungen zwischen Rhizopoden- und Flagellatenformen hin. Buck sah in der Schale von *Arcella vulgaris* rundliche Pseudosporen, welche die vielleicht vorher schon abgestorbenen Arcellen ausfraßen, dann einen Geißelfaden entwickelten, mittels dessen sie umherschwammen. Die Flagellaten encystierten sich. Nach wenigen Tagen kamen aus den Cysten kleine Amöben hervor, welche eine Zeitlang Chlorophyllkörper aufnahmen. Schließlich „begannen die Amöben sich zusammenzukugeln, die Vakuolen blieben aber bestehen, und die zahlreichen dunklen Körnchen ihres Protoplasmas waren in einer lebhaft tanzenden Bewegung, gleich einer Molekularbewegung, begriffen. Am 28. Oktober hatten sich nun alle Amöben zusammengekugelt und boten die nämliche Erscheinung der Molekularbewegung dar. Einige der Tiere entleerten einen Teil ihres körnigen Inhalts nach außen, schlossen sich dann wieder oder zerfielen alsdann total in eine Menge sich lebhaft bewegender Körnchen, welche bisknitförmig eingeschnürt, eine Länge von ungefähr $^1/_{500}$ mm hatten.“ „Am 30. Oktober konnte ich keine einzige Amöbe mehr erblicken, dagegen krochen viele Tausende äußerst kleiner, heller Amöben auf dem Objektträger umher. Dieselben gingen aber wegen Mangel an passender Nahrung zugrunde.“ Ich halte es nicht für unwahrscheinlich, daß die bisknitförmige Einschnürung der Körnchen mit einer Kopulation der Gameten gleichbedeutend ist. Der Flagellatenzustand tritt bei Pseudospora im Gegensatz zu Allogromia vor der Sporulation auf, und zur Ergänzung sei gesagt, daß nach Cienkowski (65) bei *Pseudospora* Flagellaten- und Amöbenzustand beliebig einander ablösen können.

Schaudinn untersuchte die Gametenbildung bei einer der *Allogromia* sehr nahe verwandten Form, *Chlamydophrys stercorea*, nachdem er schon früher (94) bei *Hyalopus* (*Gromia*) *dujardinii* kopulierende Gameten mit einer langen Geißel nachgewiesen hatte. Er beschreibt den Vorgang folgendermaßen: „Alle Fremdkörper und auch der degene-

rierte Zellkern werden ausgestoßen, und im Hintergrund der Schale bleibt nur die Chromidialmasse mit wenig Plasma zurück und ballt sich zu einer Kugel zusammen. In dem ungeteilten Plasma differenzieren sich aus dem dichten Chromidium die Geschlechtskerne in geringer Zahl (meist wurden acht beobachtet), erst dann zerfällt die Plasmakugel innerhalb der Schale in so viele Teilstücke, als Kerne vorhanden sind, diese anfangs kugeligen Zellen nehmen kurz ovale Gestalt an und entwickeln an einem Pol zwei Geißeln, mit deren Hilfe sie aus der Schale schwärmen." Über die Entstehung der Gametenkerne sagt er in einer Fußnote: „Bei der Dichtigkeit der Chromidialmasse vermag ich über die Art der Bildung dieser Kerne nichts Sicheres auszusagen, im Leben ist die Masse so stark lichtbrechend, daß man keine deutlichen Differenzierungen erkennt; im gefärbten Präparat sieht man wohl mancherlei, doch wage ich vorläufig keine Deutung. Sicher ist nur, daß dann unter Aufhellung des Plasmas die Kerne plötzlich da sind, während vorher eine einheitliche Masse vorhanden war." Vermutlich dürfte die Kernbildung ebenso wie bei *Allogromia* verlaufen. Je zwei Gameten kopulieren und bilden eine Cyste, aus der nach Passieren durch einen tierischen Darm (also auch hier die Tendenz zu parasitischer Lebensweise) eine kleine Amöbe ausschlüpft, welche sich bald mit der *Chlamydophrys*-Schale umhüllt. Das Flagellatenstadium von *Allogromia* wird hier also durch einen, ebenfalls zur Verbreitung der Art führenden Cystenzustand ersetzt. Bei *Centropyxis* sind nach SCHAUDINN die Gametenkerne ebenfalls Sekundärkerne, welche aus dem Chromidialnetz entstehen und ebenso bei *Polystomella*.

SCHAUDINN kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schluß, daß die Chromidialmasse die Geschlechtskernsubstanz darstelle. Ich glaube, daß eine Verallgemeinerung dieses Satzes für die Thalamophoren nach dem Vorgange GOLDSCHMIDT's (04) nicht angängig ist. Denn 1., in jungen Kulturen von *Allogromia* sind nur Spuren von Chromidien zu finden und erst im Laufe einer längeren Zucht treten sie zahlreicher auf. Sie sind also inkonstante Gebilde, die Kerne dagegen konstante, ebenso wie bei den Infusorien der Mikronukleus während der vegetativen Periode eine ziemlich konstante Größe aufweist, während die Größe des Makronukleus im Laufe längerer Kultur ganz beträchtlich schwankt. 2. Die Chromidien entstehen aus dem Kern (Fig. 5), also kann dieser unmöglich rein vegetativ sein, wenn wirklich die Chromidien (die „Sporetien" GOLDSCHMIDT's) das geschlechtliche Chromatin vorstellen. Der befruchtete Kern gibt erst im Laufe des vegetativen Lebens des Tieres

ganz allmählich Chromidien ab und zwar um so stärker, je länger die vegetative Periode dauert, also müßte doch sicherlich bis dahin der Kern beide Chromatinarten besitzen, und das bedeutet ebensoviel, als daß eine Trennung der beiden Chromatinarten mindestens morphologisch unmöglich ist. 3. Der Kern der *Allogromia* gibt vor der Bildung der Sekundärkerne Substanz an das Chromidialnetz ab (Fig. 9—12). Ist dieser Umstand auch kein Beweis für die geschlechtliche Funktion des Allogromienkerns, so ist es doch mindestens ebenso unberechtigt, den Kern von jeder geschlechtlichen Funktion auszuschließen.

Durch die Freundlichkeit Herrn Dr. Doflein's wurde ich noch auf einen Fall aufmerksam gemacht, den M. Robertson (05) bei *Pseudospora volvocis* beschreibt, bei dem schon Cienkowski (65) ein Rhizopoden- und ein Flagellatenstadium nachwies. *Pseudospora volvocis* kann in freilebendem Zustand nach Belieben am Vorderende zwei gleichartige Geißeln ausbilden, von denen die eine jedoch beim Schwimmen nach hinten gerichtet ist. Sie hat wie *Allogromia* die Fähigkeit, sich im Flagellatenzustand zu teilen, angeblich durch Querteilung. Außerdem kommt noch ein heliozoenartiger Zustand vor. Fräulein Robertson beobachtete außerdem eine Gametenbildung mit Kopulation der Gameten, doch ist die Beschreibung der Entstehung der Gameten so unklar und unvollkommen, daß ich darauf verzichten muß, näher auf die Arbeit einzugehen.

Bei allen den besprochenen Entwicklungskreisen konnte nur bei *Pseudospora parasitica* (Cienkowski, Buck) und *Pseudospora volvocis* (Cienkowski, Robertson) ein Flagellatenstadium beobachtet werden, wie ich es bei *Allogromia* nach der Kopulation der Gameten sah. Ein Irrtum meinerseits dürfte ausgeschlossen sein, da ich die Flagellaten zu wiederholten Malen beobachtete und dabei jedesmal auf alle anderen in dem betreffenden Wasser vorkommenden Protozoen achtete. Die Entwicklung der Flagellaten aus den Zygoten konnte leider nur einmal in dem besprochenen Fall direkt unter dem Mikroskop beobachtet werden, und zwar nur mit so schwachen Systemen, daß manche sehr interessanten Fragen unentschieden bleiben mußten, wie z. B. die Entstehung der Flagellen (oder allenfalls ihre Umwandlung aus den Gametengeißeln, sowie die Entstehung von diesen usw.).

Beziehungen zwischen Rhizopoden und Flagellaten konnten des öfteren festgestellt werden. Abgesehen von den Rhizomastiginen, die sich mittels Geißeln und außerdem auch noch durch Pseudopodien fortbewegen können, wurden rhizopodenartige Zustände beschrieben

bei Heteromastigoden (*Bodo*) und Isomastigoden (*Pseudospora*). Außerdem konnten in allen Ordnungen der Rhizopoden Gameten beobachtet werden, und zwar bei den Reticulosa zuerst von Haeckel (70) bei *Protomyxa aurantiaca* und von R. Hertwig (14) bei *Microgromia socialis*, die sich allerdings, ohne sich im Flagellatenzustand zu teilen, wieder in die gewöhnliche vegetative Form zurückverwandeln. *Pseudospora* und *Allogromia* dagegen besitzen außer dem Gametenstadium noch eine eigene Flagellatengeneration. *Pseudospora* wurde deshalb schon längst unter die Flagellaten und zwar zu den Isomastigoden eingereiht, der Flagellatenzustand von *Allogromia* dagegen muß zu den Heteromastigoden gestellt werden.

Solange nicht mehr Resultate von Wechselbeziehungen zwischen Rhizopoden und Flagellaten vorliegen, halte ich es für verfrüht, auf Grund der wenigen bisherigen Ergebnisse systematische Spekulationen aufbauen zu wollen. Nur das eine möchte ich bemerken, daß sich das gegenseitige Verhältnis der beiden Ordnungen in der Art denken ließe, wie der Generationswechsel zwischen Polypen und Medusen, der nach der einen oder anderen Richtung in Anpassung an die Lebensweise der Tiere unterdrückt werden kann.

Im Anschluß an vorliegende Arbeit möchte ich noch eine Abbildung von der Gametenbildung eines anderen Rhizopoden (?) geben, von der ich in älteren Präparaten fragmentarische Bilder fand. Es handelt sich anscheinend wie bei *Allogromia* um eine sehr primitive Art des Parasitismus während des Prozesses der Gametenbildung innerhalb von *Euglena viridis*. Daß die Euglenen ebenso wie die Amöben nicht mehr ganz normal und kräftig waren, beweist das einem der betreffenden Präparate entnommene Chromidialtier Fig. 23. Eine mit zwei Gameten bildenden Parasiten behaftete *Euglena* zeigt Fig. 24. Keines der Bilder, die ich zu Gesicht bekam, war sehr deutlich, hauptsächlich wegen der ungünstigen Färbung mit Boraxkarmin, doch scheint es sich jedesmal, wie auch in der abgebildeten Figur, um eine noch gemeinschaftliche Plasmamasse mit vielen Kernen zu handeln. Eine Cystenhülle, wie sie an Allogromien, die in der Gametenbildung weit fortgeschritten sind, beobachtet wurde, konnte ich beim Euglenenparasiten nie finden. Ich sah in den Präparaten außer den Euglenen und einer Unmenge winzig kleiner Amöben, die wohl die Gameten des Parasiten darstellen, nur noch *Chilodon*, wenige größere Amöben und einen kleinen Rhizopoden, welcher der *Vampyrella simplex* sehr ähnlich sieht (Fig. 25). Er ist einkernig, das Plasma ist sehr chromatisch, häufig finde ich in einiger Entfernung von der äußeren Plasmagrenze eine zweite, ihr parallel

verlaufende Linie, die ich für den Saum einer homogenen, unfärbbaren Gallertschicht ansehe. Besonders zahlreich sind die Tiere innerhalb von verlassenen Cystenschalen von *Didinium nasutum*. Ich bin keineswegs sicher, ob die vermutliche kleine *Vampyrella* und der Parasit der *Euglena* eins sind, doch vermute ich dies infolge der entsprechenden Größe beider, ferner infolge des großen Chromatinreichtums, der dem des Gameten bildenden Parasiten entspricht, und der starken Vertretung der vampyrellenartigen Tiere in meinen Präparaten. Wahrscheinlich den gleichen Parasiten in Gametenbildung innerhalb von *Euglena*, *Phacus* und *Trachelomonas* bildet Stein (78) ab, der auch die Gameten ausschwärmen sah; sie besitzen nach Stein eine Geißel. Die Stein'sche Ansicht, daß die Schwärmer Fortpflanzungskörper der betreffenden Flagellaten sind, ist aus verschiedenen Gründen unhaltbar; einmal ist die Zahl der Gametenkapseln in einem Flagellaten sehr variabel, dann können die Flagellaten in den verschiedensten vegetativen Zuständen „Keimkugeln" enthalten, ferner kann man hier denselben Einwand machen wie bei den Amöbensporen, daß aus einem Kern ganze Tiere entstehen müßten. Ich möchte mit dieser äußerst dürftigen Beobachtung nur einen Hinweis bringen, daß die Gametenbildung wohl eine sehr weite Verbreitung besitzen muß, und daß unsere Kenntnis von der geschlechtlichen Fortpflanzung der Rhizopoden vielleicht nur deshalb so wenig bekannt ist, weil die geschlechtliche Generation so klein und so abweichend von der vegetativen Form ist, daß sie bisher nicht beachtet wurde.

Literaturverzeichnis.

Awerinzeff: Süßwasser-Rhizopoden. Lief. 1 u. 2 (russisch). Arb. d. kais. Nat.-Ges. zu St. Petersburg Vol. 36 1906.

Bück, E.: Einige Rhizopodenstudien. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. XXX 1873.

Bütschli, O.: Protozoa. Bronn's Klassen und Ordnungen.

Calkins, G. N.: Evidences of a Sexual-cycle in the Life-history of *Amoeba proteus*. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1905.

Carter, H. J.: Further Observations on the Development of Gonidia (?) from the Cell-contents of the Characeae. Ann. and Mag. Nat. Hist. Bd. XVI u. XVII 2. Ser. 1855/56.

—: On *Amoeba princeps* and its Reproductive Cells, compared with *Aethalium*, *Pythium*, *Mucor*, and *Achlya*. Ann. and Mag. Nat. Hist. Bd. XII 3. Ser. 1863.

Cienkowski, L.: Beiträge zur Kenntnis der Monaden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. I 1865.

Cienkowski, L.: Über einige Rhizopoden und verwandte Organismen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII 1886.
Doflein, F.: Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena (G. Fischer) 1901.
Goldschmidt, R.: Die Chromidien der Protozoen. Arch. f. Protistenk. Bd. V 1904.
Greeff: Über einige in der Erde lebende Amöben und andere Rhizopoden. Arch. f. mikr. Anat. Bd. II 1866.
Haeckel, E.: Studien über Moneren und andere Protisten. Leipzig 1870.
Hertwig, R.: Über *Microgromia socialis*, eine Kolonie bildende Monothalamie des Süßwassers. Arch. f. mikr. Anat. Bd. X (Suppl.) 1874.
— —: Über Encystierung und Kernvermehrung bei *Arcella vulgaris*. Festschr. f. Kupffer 1899.
Hertwig, R. u. Lesser: Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. mikr. Anat. Bd. X (Suppl.) 1874.
Rhumbler, L.: Systematische Zusammenstellung der recenten Reticulosa. Arch. f. Protistenk. Bd. III 1903.
Robertson, M.: *Pseudospora volvocis* (Cienkowski). Quart. Journ. of Micr. Sc. Bd. IL 1905.
Schaudinn, F.: Über die systematische Stellung und Fortpflanzung von *Hyalopus* n. g. (*Gromia dujardini* [Schltz.]. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde Berlin 1894.
—: Untersuchungen über die Fortpflanzung einiger Rhizopoden. Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte Bd. XIX 1903.
Schulze, F. E.: Rhizopodenstudien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XI 1875.
Stein, F.: Der Organismus der Infusionstiere. III. Leipzig (Engelmann) 1878.
Wallich: Further observations on an undiscribed indigenous *Amoeba* with Notices on remarkable forms of *Actinophrys* and *Difflugia*. Ann. and Mag. of Nat. Hist. Bd. XI 3. Ser. 1863.

Tafelerklärung.

Tafel I.

Fig. 1. Besonders große *Allogromia* nach dem Leben.

Fig. 2. Schräg nach unten gekehrte Allogromia mit Pseudopodien, *o* = Schalenöffnung.

Fig. 3 u. 4. Allogromien nach Präparaten.

Fig. 5. Chromidienbildung.

Fig. 6. Teilungsstadium.

Fig. 7. Kerndegeneration.

Fig. 8. *Vampyrella*, mit *Allogromia* in Gametenbildung infiziert; nach dem Leben.

Fig. 9. *Amoeba proteus* mit sechs frisch eingedrungenen Allogromien.

Fig. 10 u. 11. Kernauflösung von Allogromia.

Fig. 12. Bildung der Sekundärkerne.

Fig. 13. Teilung derselben.

Fig. 14. Die Sekundärkerne haben Membranen erhalten; alter Kernrest noch vorhanden.

Fig. 15. Körperteilung.

Fig. 16. Stadium kurz vor der Reifung der Gameten.

Fig. 17. Reife Gameten in ihrer gemeinsamen Cystenhülle.

Fig. 18. Stark infizierte *Amoeba proteus* mit reifen Gametenhaufen = *r* und unreifen Stadien = *u*; *n* = Kern der Amöbe, *f* = Futterkörper.

Fig. 19. Reife Gameten.

Fig. 20. Kopulation derselben.

Fig. 21. Flagellatenstadium nach der Kopulation der Gameten.

Fig. 22. *Amoeba proteus*, erfüllt mit reifen Gameten von Allogromia.

Fig. 23. *Euglena viridis*, mit zahlreichen Chromidien.

Fig. 24. *Euglena viridis*, mit zwei Gameten bildenden Parasiten infiziert.

Fig. 25. Vermutliche vegetative Form der Parasiten von *Euglena* (*Vampyrella simplex?*).

Sämtliche Figuren außer Fig. 21 sind mit dem Abbe'schen Zeichnungsapparat gezeichnet. Als Vergrößerungen wurden angewandt bei Fig. 1, 2, 8, 9, 24, 25 Leitz Comp. Oc. 4, Imm. $^1/_{12}$, bei Fig. 3—7, 10—20, 26 Comp. Oc. 8, Imm. $^1/_{12}$, bei Fig. 18, 23 Comp. Oc. 2, Imm. $^1/_{12}$, bei Fig. 21 Oc. 2, Obj. 5. Tubuslänge 170 mm.

Der Verfasser vorstehender Arbeit, Hans Prandtl, hat die Freude nicht mehr erlebt, dieselbe veröffentlicht zu sehen. Am 29. November des verflossenen Jahres wurde er im noch nicht beendeten 25. Lebensjahre seinem Wirkungskreis durch einen jähen Tod entrissen. Als langjähriger Lehrer und Freund des Verstorbenen kann ich die Arbeit nicht der Öffentlichkeit übergeben, ohne ihm schmerzbewegt einige Worte der Erinnerung zu widmen.

Hans Prandtl, Kind einer Münchner Familie, aber in Hamburg am 19. Dezember 1881 geboren, hat seine gesamte Studienzeit an der Münchener Universität verbracht. Da er von Anfang an durch sein lebhaftes Interesse und seine große Begabung für Biologie meine Aufmerksamkeit erregte, gab ich ihm Gelegenheit, zunächst als Hilfsarbeiter an der Staatssammlung, später als mein Privatassistent sich eingehender mit Zoologie zu befassen. Er zeichnete sich bei dieser Tätigkeit durch unermüdlichen Fleiß, durch die rasche und energische mit praktischem Sinn gepaarte Art seines Arbeitens, große Beobachtungsgabe und Fähigkeit, sich in wissenschaftliche Probleme zu vertiefen, aus. Nachdem er im Januar 1906 sein Doktorexamen mit der ersten Note bestanden hatte, ermöglichte ein Stipendium der Münchner Akademie der Wissenschaften ihm im Herbst einen Aufenthalt an der Zoologischen Station von Neapel. Hier erkrankte er an einem schweren Ruhranfall, welcher ihn dahin-

raffte, da er, ein eifriger Turner und Freund des Sports, durch körperliche Anstrengungen im letzten Jahre seinem Herzen zu viel zugemutet hatte. Ein schwerer Verlust für die Zoologie, auf deren Gebiet er Hervorragendes zu leisten berufen war, für seine Freunde und Kollegen, die ihn als einen zuverlässigen Charakter und allezeit hilfsbereiten Mitstrebenden schätzten, vor allem aber für mich, seinen Lehrer, der in ihm einen treuen, durch jahrelange gemeinsame Untersuchungen eng verbundenen Mitarbeiter verloren hat.

München, im Januar 1907.

Richard Hertwig.

Die Sexualität bei den Protisten.

Von

Dr. S. **Prowazek**.

Die Untersuchungen der Entwicklungskreise der Protisten in den letzten Jahren haben unsere bis vor kurzem noch recht mangelhaften Kenntnisse über die Sexualerscheinungen dieser niedrig organisierten Lebewesen wesentlich erweitert und führten zu dem beachtenswerten Ergebnis, daß in allen Gruppen des Protistenreiches ein Sexualakt vorkommt und daß demnach die Sexualität ein Elementarvorgang der organischen Substanz ist. In diesem Sinne sei hier nur an die Sexualerscheinungen der Bakterien (SCHAUDINN 1902a) der Saccaromyceten, der Myxomyceten (sofern *Plasmodiophora* zu ihnen gerechnet wird), Flagellaten, Coccidien mit Einschluß der ihnen nächstverwandten Hämosporidien, Gregarinen und Ciliaten erinnert. Bei den Myxosporidien scheint erst in der Spore (Pebrine) oder vor der eigentlichen Sporenbildung eine Autogamie mit Ausbildung von 1—2 Reduktionskörpern stattzufinden, während die sog. Cnidoblastkerne eine Art von Somakernen der geschlechtlichen Kerngeneration darstellen. Der Entwicklungscyklus der Sarcosporidien ist noch zu wenig studiert worden, um in diesem Sinne hier bereits einen Rückschluß zu gestatten, — immerhin scheint hier eine später noch zu besprechende Zweikernigkeit der Protisten vorzukommen, die mit beweglichen Serumformen in Zusammenhang zu bringen wäre.

Man hat bis jetzt im allgemeinen die Lösung des Sexualitätsproblems in dem Phänomen der Befruchtung allein gesucht, wobei die geschlechtliche Differenzierung und das Verhalten der vollkommen entwickelten Sexualzellen an sich naturgemäß mehr in

den Hintergrund der Betrachtungen gedrängt, wenn nicht völlig außer acht gelassen worden ist. Für eine derartige einseitige Betrachtungsweise sind aber gerade die Protisten nicht geeignet, — hier drängt sich mit zwingender Notwendigkeit die Betrachtung der Geschlechtsformen selbst von den ersten Anfängen ihrer Ausbildung auf.

Eine geschlechtliche Differenzierung, die sich in einer deutlich wahrnehmbaren Verschiedenheit der zum Sexualakt schreitenden Zellen äußert, wurde zuerst genauer bei den ursprünglichen Flagellaten und den mit ihnen aufs engste verwandten Hämosporidien und Coccidien sowie bei den Gregarinen nachgewiesen.

Prandtl (1906) konnte außerdem bei den Ciliaten (*Didinium*) auch einen gewissen Unterschied im Verhalten der zu einem Befruchtungskern zusammentretenden Wander- und stationären Kerne nachweisen; die Deutung dieser Unterschiede im Sinne einer geschlechtlichen Differenzierung ist wohl sehr naheliegend.

Die Vorgänge der Geschlechtsdifferenzierung kann man am besten an Hand der von Schaudinn gegebenen ausführlichen Schilderung dieser Prozesse bei *Haemoproteus noctuae* (Schaudinn 1904) verfolgen. Wir wollen der Übersichtlichkeit wegen mit der Schilderung des sog. Ookineten und zwar vor allem dessen Kernes, der für diese Vorgänge besonders in Betracht kommt, an dieser Stelle beginnen.

Rein morphologisch betrachtet, besteht dieser Kern, von dem alle Differenzierungen ausgehen, aus zwei Komponenten und zwar einer Art von Hohlkugel, die von einer in gewissen Fällen alveolarstrukturierten achromatischen Substanz, der das färberisch nachweisbare Chromatin eingelagert ist, gebildet wird, und ferner aus einem dichteren, lichtbrechenderen, rotvioletten Gebilde, das wir zunächst mit dem indifferenten Namen „Innenkörper" belegen wollen. Man kann zunächst zwei Arten von Ookineten, aus denen aber in allen Fällen Trypanosomenformen hervorgehen, unterscheiden und zwar Ookineten mit einem großen chromatinreichen Kern und hellen Protoplasma, die den Ausgangspunkt für männliche Formen bilden, und große Ookineten mit kleinem Kern und reservestoffreichem Protoplasma, aus denen sich weibliche Individuen, wie der spätere Befruchtungsprozeß beweist, herausdifferenzieren. Im ersteren Falle gehen durch fortgesetzte, ungleichpolige Teilung aus dem Zentralkern acht gleichwertige Kerne hervor, die sich weiterhin wiederum heteropol teilen, doch so, daß an Stelle der ursprünglichen acht Kerne acht Doppelkerne (also 16 Kerne)

auftreten, von denen je einer in der Folgezeit den Blepharoplast darstellt. Bei den männlichen Ookineten degeneriert der ursprüngliche centrale Kern, dessen Substanz zum großen Teil auf die oben beschriebene Kernhohlkugel zurückzuführen ist.

Bei der Aufdifferenzierung der weiblichen Formen aus den oben geschilderten weiblichen Ookineten ist gerade das Umgekehrte von den hier beschriebenen Vorgängen der Fall: hier rücken nämlich die durch den ungleichpoligen Kernteilungsvorgang entstandenen acht Doppelkerne in den hinteren Abschnitt des reservestoffreichen Zellkörpers und gehen hier insgesamt zugrunde, während der centrale Kern, bei dem die Kernhohlkugel im Verhältnis zu dem restlichen Innenkörper stärker ausgebildet war, für die Entwicklung der weiblichen definitiven Trypanosomenform maßgebend ist. Bezüglich der weiteren Details muß auf die wichtige Arbeit von Schaudinn selbst hingewiesen werden.

Abgesehen von den bereits angedeuteten Protoplasmaverschiedenheiten kann man, wie erwähnt worden ist, in den Ookinetenkernen eine doppelte morphologische Differenzierung beobachten und zwar einen dichter gebauten, violettrot färbbaren, lichtbrechenderen Innenkörper und eine bei weitem weniger dicht strukturierte, ihn hohlkugelartig umgebende Hülle von achromatischer und chromatischer Substanz.

Je nach dem Entwicklungsstadium und dem Grade der geschlechtlichen Differenzierung wechselt das gegenseitige Massenverhältnis der beiden Bildungen. Was für eine Bedeutung besitzen nun diese beiden Differenzierungen?

Während der Zellruhe kann man vorläufig kaum irgend etwas positives über die Funktion des Innenkörpers aussagen, während der Teilung dagegen zerstemmt dieser Innenkörper, in eine Art von Centralspindel sich umbildend, den Kern, wie dieses auch für das Karyosom der Coccidien (*Eimeria schubergi*) von Schaudinn (1900), wo sogar eine Centralspindelschnürplatte oder ein Zwischenkörper beobachtet wurde, festgestellt worden ist. Dasselbe gilt auch für den Innenkörper verschiedener anderer Flagellaten wie *Euglena* (Kersten 1895), *Eutreptia* (Steuer 1903) und *Entosiphon* (Prowazek 1903).

Aus dem Innenkörper der Trypanosomen geht ferner durch eine ungleichpolige Teilung der mit der Lokomotion in Zusammenhang stehende Kern, der Blepharoplast hervor, aus dem sich durch eine weitere, wiederum heteropole Teilung der Randsaum der undulierenden Membran ausbildet. Morphologisch aus-

gedrückt, entspricht also dieser Randsaum einer Centralspindel, die sonst den ovalen oder runden Kern zerteilt, zerstemmt, in dem hier geschilderten Fall dagegen erst dem flüssigen, der Tropfenform zustrebenden Protoplasten die Trypanosomenform verleiht und die Bewegung etwa wie die Rückenflosse eines Aales reguliert, während die eigentlichen Körper„kontraktionen" des Protisten auf die sog. acht Myophane zurückzuführen sind. Diese sind morphologisch mit den Mantelfasern der Centralspindel zu vergleichen und sind auch insofern als Kernderivate aufzufassen, als sie genetisch aus dem Blepharoplast entstehen. Vielleicht ist die sie verbindende „Haut", der Periplast, überhaupt ein Kernderivat, denn sie färbt sich mit Giemsa's Eosinazur rot wie der Kern, widersteht der Pepsin- und Trypsinverdauung, wird durch Saponin und Sapotoxin nicht aufgelöst, dagegen durch Galle und taurochalsaueres Natrium bis auf einen unbedeutenden Schatten in Lösung übergeführt. Sie verhält sich ungefähr wie die Membran der roten Blutkörperchen, die nach den neueren Untersuchungen von Albrecht, Koeppe, Weidenreich, Pascucci (Hofmeister's Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 6, 1905, H. 11/15), eine halbdurchlässige Membran mit Lipoid- und Cholesterineinlagerungen ist und nach Albrecht genetisch mit Kernsubstanzen in Zusammenhang zu bringen wäre.

In gleichsam komprimierter Weise finden wir das Prinzip des Trypanosomenanfbaues in dem morphologischen Bau des Spirochätenzelleibes verwirklicht. Hier erfuhr der Doppelkern aber keine sichtbare Differenzierung in zwei Kerne — in einen Centralkern und einen Blepharoplast — sondern verblieb auf seinem primitiven, gleichsam ineinandergeschachtelten Stadium und bildete sich in den sog. Kernstab um, dessen Struktur auf den Stadien vor der Zellteilung der *Spirochaeta balbianii*, die Perrin genau untersucht und in diesem Archiv (1906) beschrieben hatte, gut beobachtet werden kann. Im Prinzip ist dieser Kernstab ein mitunter spiralig gedrehter, enorm verlängerter Innenkörper mit einer chromatischen Umhüllung, die zum größten Teil dem Centralkern oder vegetativen Kern der Trypanosomen entspricht.

Das formgebende Prinzip des Spirochätenzelleibes ist in diesem Kernstab und der undulierenden Membran, die bei den größeren Formen mit ihm im Zusammenhang steht und die ich bei einer ganzen Reihe von Spirochäten jetzt sowohl während des Lebens als auch im Präparat beobachten konnte, gegeben. Nach demselben, physiologisch vollkommen begründeten Bauplan ist über-

haupt jede Geißel, jedes Flagellum gebaut. Neueren mehrfach nachgeprüften Untersuchungen zufolge besteht diese aus einem elastischen Achsenfaden, der demgemäß dem Randsaum (Centralspindel, Blepharoplastderivat) homolog ist, und aus einer ihn umgebenden kontraktilen spiraligen Hülle. Für die Spermien der Weinbergschnecke habe ich den Nachweis erbracht, daß ihr Achsenfaden auf eine Centrodesmose der Centralkörper zurückzuführen ist, eine Angabe, die allerdings von Mewes bestritten wurde und noch der Nachuntersuchung harrt.

Das Ergebnis der hier niedergelegten, zum Teil nur theoretisch erschlossenen Bemerkungen über den Innenkörper läßt sich in dem Sinne zusammenfassen, daß nach anderweitigen Untersuchungen das Protoplasma gleichsam ein zweiphasisches kolloidales System darstellt, bei dem die Sol- und Gelphase wechseln kann, in der geschilderten Innenkörpermodifikation dagegen in der letztgenannten Phase einerseits einen festeren, gleichsam zähen, formbestimmenden, elastischen und andererseits einen veränderlichen Kontraktionen zugänglichen Zustand annimmt.

Bei den Trypanosomen ist man in der Lage, gelegentlich der sog. Agglomeration dieser Blutparasiten, d. h. der rosettenförmigen Zusammenklebung zahlreicher Individuen sowohl unter Einfluß eines Immunserums als unter Einwirkung von verschiedenen chemischen Stoffen (Brillantkresylblau) noch eine weitere vermutliche Funktion dieses Innenkörpers bzw. seines Derivates des Blepharoplasts festzustellen. Die Trypanosomen kleben nämlich, soweit meine Beobachtungen reichen, immer mit den Enden zu den charakteristischen Rosetten zusammen, wo der sog. Blepharoplast liegt. Dieser produziert also durch eine physiologische Veränderung eine auch mikroskopisch nachweisbare schleimartige Substanz, die zu jenen Verklebungserscheinungen den Anlaß gibt. Es wäre von Interesse, dieses Phänomen unter verschiedenen Salzkonzentrationen und Temperaturen zu verfolgen.

Auf manchen Stadien der weiblichen Naganatrypanosomen sowie der Kulturformen der Enletrypanosomen findet man im Centrum des rotvioletten Innenkörpers eine blau sich färbende Substanz, die ich mit dem Plastin zu identifizieren geneigt bin. Sie kommt auch in den Nukleolen der Metazoenzellen vor. In pathologisch veränderten Zellen, wie beim Molluscum contagiosum, zuweilen beim Karzinom, bei der Pockenkrankheit der Karpfen, der Kohlhernie usw. erfahren diese Nukleolen eine bedeutende Vergrößerung, manchmal sind sie wie bei der Vaccine flaschen-

förmig gestaltet und zeigen Beziehungen zur Kernmembran, Bilder, die mit einem Substanzaustritt in Zusammenhang zu bringen wären (Albrecht, Lukjanow, Pathologie der Zelle). Ferner ist der Nachweis erbracht worden, daß die Guarnierischen Körperchen bei der Vaccine nicht die lange Zeit gesuchten Erreger dieser Krankheit aus dem Protistenreich sind, da man selbst nach ihrer Zerstörung mit demselben Material mit Erfolg Infektionsversuche vornehmen kann, daß sie aber aus einer chromatischen und einer plastinartigen Komponente bestehen und genetisch zu dem Kern in einer sehr innigen Beziehung stehen.

Die genannten Körperchen sind also als Abwehrprodukte der Zelle zu betrachten und sind zum Teil ihren Reaktionen zufolge mit dem Plastin identisch. Da überdies alle diese Kernsubstanzen ziemlich beständig sind, scheint die Annahme, daß sie Träger der Innenkörper sind, nicht so unbegründet zu sein. Nach den Untersuchungen von Paschen (1904) erscheinen sie bei der Revaccination in größerer Zahl und rascher, eine Erscheinung, die mit der Auffassung, daß sie Reaktionsprodukte der Zelle sind, gleichfalls im Einklang steht.

Im Sinne der Morphe ist demnach die Substanz des Innenkörpers Träger des formengebenden Prinzips (Centralspindel, Randsaum der undulierenden Membran, Achsenstab der *Herpetomonas*, *Trichomonas* usw., Spermienachsenfaden), ferner der lokomotorischen Funktion (Myophane, Mantelstrahlen), im Sinne der defensiven Zelltätigkeit vielleicht Produzent der agglomerierenden Substanzen bei den Trypanosomen sowie der Innenkörper. Die hier angeführten Termini entbehren nicht eines metaphysischen Beigeschmackes und sind, da wir die physiologischen Funktionen des kolloidalen Protoplasmas noch zu wenig kennen, cum grano salis zu handhaben; im letzten Grunde bezeichnen sie nur die Funktionen besonderer Phasenzustände der organischen Kolloide.

Lenken wir nun unsere Aufmerksamkeit der den Innenkörper umgebenden Kernhohlkugel, die die eigentliche Masse des Kernchromatins enthält, zu. Der Chemismus des Chromatins ändert sich im Laufe des Zellebens in verschiedener Weise und es gewinnt den Anschein, daß das Chromatin ein Sammelausdruck für amphotere Kolloide ist, die mit einer Reihe von Farbstoffen salzartige Kombinationen eingehen können, die sich aber eben infolge ihrer amphoteren Natur färberisch ändern (Metachromasie). So färben sich die Kerne der jungen Blutzellen beim Huhn nicht mit dem von Witt und Ehrlich eingeführten Neutralrot, während mit der vom Kern

vermutlich ausgehenden (Albrecht) vorschreitenden Hämoglobinisierung der Rotzellen sowohl um deren Kerne herum Granulationen in der Form eines Chromidialnetzes als auch deren Kerne selbst sich kirschrot färben. Etwas Ähnliches gilt von dem Kern verschiedener Ciliaten (*Stylonychia*, *Paramaecium*).

Nach zahllosen physiologischen Versuchen und Beobachtungen spielt das Chromatin im Haushalte der Zellen eine wichtige Rolle.

Es ist bewiesen, daß kernlose Zellen auf die Dauer die aufgenommene Nahrung nicht mehr verdauen können (kernlose Amöben, *Stentor*, Vorticellen und Paramäcien, deren Kern durch eine Bakterieninfektion zerstört worden ist).

Das Chromatin spielt ferner im osmotischen Haushalt der Zellen eine Rolle: kernlose oder künstlich entkernte Zellen sind flüssigkeitsreich und von zahlreichen Flüssigkeitsvakuolen durchsetzt (kernlose Amöben, kernlose *Stentor*, bei der Excystierung entkernte *Stylonychia*, kernlose Algenzellen usw.). Das Chromatin steht schließlich zu der Produktion von Reservestoffen in Beziehung; so wies Zuelzer (1904) auf den Zusammenhang der Chromidien bei *Difflugia* zu der Produktion von Glykogengranula hin und Bluntschli (1904) machte auf die Dotterbildung von seite der Chromidien im Ei der *Ciona* aufmerksam. Das Chromatin der den Innenkörper umgebenden Zone reguliert also die Osmose, beteiligt sich an der Produktion von Reservestoffen und steht durch gewisse Fermentationen zu der Verdauung und Assimilation in naher Beziehung.

Nach dieser für die folgenden Betrachtungen notwendigen Abschweifung über die beiden Komponenten des Flagellatenkernes, nämlich des Innenkörpers und der ihn umgebenden Substanzen, müssen wir nun zu unserer Ausgangsbetrachtung zurückkehren und uns die Frage vorlegen, ob noch bei anderen Protisten analoge Sexualdifferenzen, wie sie bei *Haemoproteus* (*Halteridium*, *Trypanosoma*) *noctuae* geschildert worden sind, vorkommen.

Bei *Herpetomonas muscae domesticae* (Prowazek 1904), die im Darm der Stubenfliege schmarotzt, können wir sogar die Beobachtung anstellen, daß auf gewissen Ruhestadien in ein und derselben Zelle das Protoplasma in den beiden oben berührten Modifikationen auftritt und zwar einerseits in einer reservestoffreichen, dichten Form mit runden Kernen, wie sie für die ♀ Ookineten des *Haemoproteus* festgestellt worden sind, andererseits in einem mit lichtblauem Farbenton sich tingierenden Zustand mit zahlreichen Blepharoplasten (♂).

Die Zelle ist geradezu zwitterig. Für die Cellularphysiologie ist die genaue Nachuntersuchung dieser Stadien sehr wichtig.

Geschlechtlich differenzierte Formen, von der Art, daß neben beständigeren reservestoffreichen, breiteren Formen mit einem runden großen oder rundlichen Kern (♀) auch baufälligere schmale, beweglichere Individuen mit einem dichten, dunkel sich färbenden Kern, der oft spiralig oder bandförmig gestaltet ist (♂) vorkommen, wurden bereits bei einer ganzen Reihe von Protisten nachgewiesen.

Bei den Trypanoplasmen der Fische wurden diese Geschlechtsunterschiede von Keysselitz (1905) nachgewiesen, bei *Trypanosoma lewisi* kommen Männchen mit schmalem Protoplasmazelleib und einem dunkelfarbenen spiraligen Kern vor (Prowazek 1905b), bei *Trypanosoma brucei* wurden Formen von erheblicher Breite und rundem oder rundlichem Kern als weibliche Individuen von Plimmer, Bradford, Schilling u. a. beschrieben. Koch (1905) beobachtete in der Tsetsefliege schmälere, männliche Formen mit einem bandförmigen Kern, ähnliche Formenzustände treten bei *Tryp. gambiense* sowie bei *Tryp. equiperdum* auf, wo sie Keysselitz beobachtet hatte (uned.). Bei der im Kristallstiel der Auster schmarotzenden *Spirochaeta balbianii* hat Perrin (1906) für den männlichen Gameten einen langgestreckten Protoplasmakörper mit einem länglichen mit 32 rundlichen Chromatinkörnern ausgestatteten Kern beschrieben.

Bekannt ist der Bau der Mikro- und Makrogameten bei dem Malariaplasmodium und den Coccidien; die Makrogameten des Plasmodiums sind reichlich mit Reservestoffen beladen und durch eine größere Widerstandsfähigkeit ausgezeichnet, von ihnen gehen auch die Rezidive aus, die befruchtungsfähigen Männchen haben ein dichtes Kernband, schmalen Protoplasmaleib und sind trypanosomenähnlich gestaltet. Die Mikrogameten der Coccidien, z. B. der *Eimeria schubergi*, besitzen zwei Geißeln, und bestehen zum größten Teil aus Kernsubstanz und sind außerordentlich beweglich.

Bei der *Cyclospora caryolytica* ist sogar ein Blepharoplast von Schaudinn (1902b) nachgewiesen worden. Die männliche Protistenzelle ist demnach durch eine größere Beweglichkeit, ein flüssigkeitsreiches, hinfälliges Protoplasma und einen dichten Kern, in dem die Innenkörpermodifikation die Oberhand gewinnt, ausgezeichnet; wie oben ermittelt wurde, ist an diese Zustandsmodifikation des organischen Kolloids im Sinne der Morphe das formenbestimmende Prinzip (Centralspindel, Blepharoplast, die Stützfaserstrukturen) und die Teilungsfunktion geknüpft.

Bei der weiblichen Protistenzelle ist der Kern rundlich, die

Innenkörpermodifikation tritt mehr in den Hintergrund, dagegen ist das Protoplasma stärker ausgebildet und sehr reservestoffreich. Das Plasma tritt in einer Modifikation auf, die für eine Anreicherung von später der Assimilation zugänglich gemachten Stoffen sehr günstig ist. Bei der weiblichen Zelle verkümmern die Attribute der männlichen Zelle, ohne ihr aber gänzlich abzugehen, wie die im Protistenreich häufig vorkommende Erscheinung der Parthenogenese mit ihren späteren Aufdifferenzierungen zur Genüge beweist.

Bereits die Naturphilosophen haben auf den zyklischen Verlauf im organischen Geschehen hingewiesen.

Die moderne Zellbiologie bemühte sich den Nachweis zu erbringen, daß die Differenzierungen in der Zelle selbst eine zyklische Natur besitzen und aus den Untersuchungen von Boveri (1901), Veydovsky und Mrazek (1903) geht hervor, daß die Centrosomen, die Teilungsorganoide der Zelle zyklische Gebilde sind. Dasselbe gilt bezüglich des Blepharoplasts (*Herpetomonas muscae domesticae*) und des Innenkörpers des vegetativen Kernes der Trypanosomen, der periodisch durch die Erscheinung der Autosynthesis sich umreguliert, ja zuweilen ganz verschwindet. Eine eigenartige Periodizität kommt auch dem „Protoplasmakernverhältnis" zu, das zuerst R. Hertwig (1903a u. b) in einer Reihe von grundlegenden experimentell wohl fundierten Schriften festgestellt und in seiner ganzen theoretischen Tragweite erkannt hat. Es ist nun klar, daß das zyklische und periodische Geschehen dieser Zellgebilde, von denen die Änderungen in dem zweiphasischen kolloidalen Protoplasmasystem ausgehen, im Laufe des Lebens in eine gewisse Disharmonie geraten muß, die durch die geschlechtliche Befruchtung eine notwendige Korrektur erfährt.

In dem Dimorphismus der Geschlechter sind gleichsam die Prinzipien dieser zyklischen Gebilde — einerseits die teilungs- und formengebende Funktion (♂), andererseits die Osmoseregulation und Reservestoffbildung sowie Präparation der Assimilate (♀) — vollkommen kraß und rein durchgearbeitet, und sie besorgen so bei der Befruchtung durch ihr Zusammentreffen die notwendige Korrektur der im Individualleben sich einstellenden einseitigen Disharmonien.

Wir müssen uns vorläufig mit diesen allgemeinen, ja leider viel zu oft noch metaphysisch etwas verschleierten Ausdrücken begnügen, da die Kolloidchemie und -physik bzw. Physiologie des Protoplasmas noch zu wenig durchforscht ist.

Immerhin geht aus diesen Erwägungen bereits hervor, daß der geschlechtliche Dimorphismus eine Elementarerscheinung des

Organischen ist, worauf bereits SCHAUDINN (1905) in seinem gedankenreichen Referat über die Sexualität der Protozoen auf der Zoologenversammlung in Breslau 1905 die Aufmerksamkeit der Biologen gelenkt hatte — es sei an dieser Stelle an die wichtige Schrift, die, als ein Programm gedacht, leider zu einem Epilog geworden ist, besonders hingewiesen — sie enthält eine Fülle von anregenden Gedanken bezüglich des Themas, das uns hier beschäftigt hat.

Wie verhält sich aber die hier angedeutete Funktion des geschlechtlichen Dimorphismus bei Protistenzellen, bei denen zur Zeit der Befruchtnng nicht zwei verschiedene Zellen zusammentreten, sondern durch eine Art von Antogamie innerhalb ein und derselben Zelle auf dem Wege einer extremen Inzucht gleichsam die geschlechtliche Korrektur besorgt wird? In dem hier angedeuteten Fall (Heliozoen, Amöben, einige parasitische Flagellaten, Bakterien usw.) teilen sich die Kerne desselben Individuums, bilden Rednktionskörper aus und verschmelzen sodann mit ihrem Partner. Diesbezüglich ist zu bemerken, daß die Kerne dieser autogam sich befruchtenden Protisten bereits im Gegensatz zu den sog. Soma- oder vegetativen Kernen und ihren Chromidien speziell als Geschlechtskerne differenziert sind und daß bereits bei einer Form (*Plasmodiophora*, PROWAZEK 1905a) sogar geschlechtliche Unterschiede im Aufbau der Kerne dieser gleichsam zwitterigen Zellen konstatiert werden konnten; in diesem Sinne müssen aber noch weitere Untersuchungen angestellt werden.

Neben der Aufgabe des geschlechtlichen Dimorphismus, die Disharmonie der zyklischen Generatoren, welche sich im Laufe des Individuallebens eingeschlichen haben und von denen die notwendigen Änderungen der Zustandsphasen der organischen Kolloide ausgehen, zu korrigieren, wird bei der Befruchtung durch die Amphimixis auch eine Vermischung der zusammentretenden Substanzen bewirkt, durch die dann die spätere Differenzierung individuell beeinflußt wird; es scheint aber, daß diese Seite des Problems durch die Chromosomenmystik, die mit allen metaphysischen Fehlern der alten, sonst überwundenen mechanistischen Weltanschaunng belastet ist, vorläufig wenig gefördert, zum mindesten durchaus nicht einer Erklärung zugeführt wurde. Das Problem wird nur verschoben, nicht beseitigt.

Colombo,[1]) 4. August 1906.

[1]) Dieser Aufsatz wurde während einer Reise verfaßt und es konnten daher nur, soweit es tunlich war, die genauen Literaturcitate angeführt werden.

Literaturverzeichnis.

Bluntschli (1904): Über die Entwicklung des Ovarialeies von Cyntia microcosmus. in: Morph. Jahrb. 1904.

Boveri, Th. (1901): Zellenstudien. Heft 4. Jena 1901.

Hertwig, R. (1903a): Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zellen. in: Biol. Centralbl. V. 23.

— (1903b): Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. München.

Keuten (1895): Die Kernteilung von Euglena viridis. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 60.

Keysselitz (1906): Generations- und Wirtswechsel von Trypanoplasma borreli. in: Arch. f. Protistenk. V. 7.

Koch, R. (1905): Über die Unterscheidung der Trypanosomenarten. in: Sitz.-Ber. Akad. Wiss. Berlin. V. 46.

Paschen (1904): Zur Frage der Vaccinekörperchen bei der Revaccination. Biol. Abt. d. ärztl. Vereins Hamburg, 5. März 1904. Münch. med. Wochenschrift 1904.

Perrin (1906): Rescbarees npon the Life history of Trypanosoma balbianii. in: Arch. f. Protistenk. V. 7.

Prandtl (1906): Die Konjugation von Didinium nasutum. in: Arch. f. Prostistenk. V. 7.

Prowazek, S. von (1903): Die Kernteilung des Entosiphon. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 1903.

— (1904): Die Entwicklung von Herpetomonas. in: Arb. d. kaiserl. Gesundheitsamtes. V. 20.

— (1905a): Über den Erreger der Kohlhernie Plasmodiophora brassicae. ibid. V. 22.

— (1905b): Studien über Säugetiertrypanosomen. ibid. V. 22.

Schaudinn, Fr. (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel der Coccidien. in: Zool. Jahrb. V. 13.

— (1902a): Beiträge zur Kenntnis der Bakterien und verwandter Organismen. I. in: Arch. f. Protistenk. V. 1.

— (1902b): Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica. in: Arb. d. Kais. Gesundheitsamtes. V. 18.

— (1904): Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Sprirochaete. ibid. V. 20.

— (1905): Neuere Forschungen über die Befruchtung der Protozoen. in: Verh Deutsch. Zool. Ges. 1905.

Steuer (1903): Über die Englenoide (Eutreptia) aus dem Canale grande von Triest. in: Arch. f. Protistenk. V. 3.

Veydovsky, F. und Mrazek, A. (1903): Umbildung des Cytoplasma während der Befruchtung und Zellteilung. in: Arch. f. mikr. Anat. V. 62.

Zuelzer, M.: (1904): Beiträge zur Kenntnis von Difflugia urceolata. in: Arch. f. Protistenk. V. 4 1904.

Ein Beitrag zur Phylogenie der Thalamophoren.

Von

Kurt Hucke.

(Hierzu 2 Textfiguren.)

„Die sicherste Führerin zur Erkenntnis der natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse der Thalamophoren ist die Paläontologie."

SCHAUDINN (in Zool. Centralbl. II S. 209).

Jedem, der sich eingehender mit dem Studium der Thalamophoren beschäftigt hat, und der die einschlägige Literatur kritisch betrachtet, muß es auffallen, wie häufig im Laufe der Zeit die systematische Anordnung der Vertreter dieser Tierklasse gewechselt hat. Fragen wir nach dem Grunde dieser merkwürdigen Erscheinung, so müssen wir ihn wohl hauptsächlich in unserer mangelhaften Kenntnis der Phylogenie dieser mikroskopischen Wesen suchen, denn jedes natürliche System einer Tiergruppe wird durch die Phylogenie ihrer Vertreter begründet und gestützt.

Nun sollte man zwar annehmen, daß die phylogenetischen Verhältnisse gerade der Thalamophoren gut bekannt seien, da rezentes Material eingehend untersucht und fossiles in seltener Reichhaltigkeit und teilweise vorzüglicher Erhaltung vorhanden ist. Ja man kann wohl mit Recht behaupten, daß keine Tierklasse sich in so reicher Arten- und Individuenzahl in so frühe Epochen der Erdgeschichte zurückverfolgen läßt, wie gerade die der Thalamophoren. Indessen, es gibt unter den Thalamophoren Formen, die völlig isoliert dastehen und keinerlei Anschluß an andere Familien zulassen, während anderer-

seits, und dieser Fall ist der häufigere, der Möglichkeiten, Übergänge aufzustellen, viel zu viele sind, so daß man Gefahr läuft, äußere Ähnlichkeiten im Schalenbau, die sich durch Konvergenz erklären, für Kriterien natürlicher Verwandtschaft zu halten. So erklärt es sich, daß man lange von den phylogenetischen Beziehungen zwischen den einzelnen Gattungen der Thalamophoren nichts oder nur wenig wußte, und die Systematik lediglich auf der Basis der mehr oder minder willkürlichen Beurteilung des Schalenbaues stand.

Sehen wir von einer Arbeit Schwager's (9)[1]) ab, die sich nur darauf beschränkt, eine Übersicht der zeitlichen Anfeinanderfolge des paläontologischen Auftretens der Thalamophorengenera zu geben, so verdanken wir Neumayr (14) den ersten Versuch, die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse der Thalamophoren klarzustellen. Er suchte nachzuweisen, daß die Kammerzahl, die Art der Perforation und das Schalenmaterial nicht in dem Umfange als Klassifikationsprinzipien anwendbar seien, wie es vordem, besonders durch d'Orbigny, geschehen war. Neumayr legte mehr Gewicht auf die geometrischen Formen der Schale und unterschied danach vier Grundtypen, die er sämtlich auf die Astrorhiziden zurückzuführen suchte. Bald darauf stellte Haeckel im ersten Bande seiner systematischen Phylogenie einen vollständigen Stammbaum der Thalamophoren auf (17, S. 191) und gründete darauf ein System, das erste, welches auf phylogenetischer Grundlage beruhte und daher Anspruch auf Natürlichkeit erheben konnte.

Auf den grundlegenden Arbeiten Neumayr's und Haeckel's fußte Rhumbler (18). Er nahm zunächst den bereits erwähnten Gedanken, alle Thalamophoren von den Sandschalern herzuleiten, wieder auf. Ferner führte er aber eine neue Betrachtungsweise ein, die den Bau der Thalamophoren nach mechanischen, man könnte sagen technisch-konstruktiven, Grundsätzen beurteilte. Indem Rhumbler das Festigkeitsprinzip als treibende Kraft für die aufsteigende Entwicklung des Schalenbaues hinstellte, gewann er gleichzeitig einen Maßstab für die Beurteilung der Höhe der Entwicklungsstufe eines Thalamophorengenus.

Man hatte nun einen einheitlichen Gesichtspunkt, nach welchem ein Stammbaum der Foraminiferen aufgestellt werden konnte, und damit war ein wichtiger Schritt getan, der sich in seinen Konsequenzen als äußerst fruchtbringend erwies. Rhumbler gelang es

[1]) Die eingeklammerten Ziffern beziehen sich auf den Literaturnachweis am Schluß der Arbeit.

nämlich, aus seinem Prinzip den Satz abzuleiten, daß das biogenetische Grundgesetz nicht allgemein auf den Schalenbau der Thalamophoren angewendet werden dürfe (18, S. 63). Er zeigte, daß der Embryonalteil der Schale mancher Thalamophoren, der sog. biformen Arten, auf einer höheren Entwicklungsstufe stehe, d. h. nach einem im mechanischen Sinne vollkommeneren Aufwindungsmodus gebaut sei als das Wachstumsende, obwohl man nach dem biogenetischen Grundgesetz gerade das Gegenteil erwarten sollte; denn bei höheren Tieren hatte man immer beobachtet, daß Neuerwerbungen ontogenetisch später auftreten als die ererbten Eigenschaften. Als eine wesentliche Stütze dieser Entdeckung muß es angesehen werden, daß es Rhumbler gelang (21, S. 175 ff.), Gründe für ihre Erklärung beizubringen: konnte man doch nicht annehmen, daß die Natur ohne zwingende Gründe von einem so allgemeinen und, man könnte sagen, logisch selbstverständlichen Gesetz Ausnahmen zulasse. In diesem Lichte betrachtet, bildet die phylogenetisch abfallende Schalenontogenie der biformen Arten, abgesehen von ihrem allgemeinen Interesse, ein wichtiges heuristisches Moment zur Auffindung verwandtschaftlicher Beziehungen unter den Thalamophoren, indem der Embryonalteil der Schale das Ziel, das Wachstumsende den Ausgangspunkt der Entwicklung zu erkennen gibt.

Fassen wir kurz zusammen: Neumayr's Abhandlung war im wesentlichen destruktiv, sie rechnete mit den veralteten Einteilungsprinzipien ab. Rhumbler begann wieder aufzubauen. Die mechanischen Grundsätze des Gehäusebaues waren der leitende Gesichtspunkt für seinen Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren.

Die in der Einleitung erwähnten Arbeiten bezweckten die Aufstellung allgemeiner Leitsätze für die Konstruktion eines Stammbaumes der Thalamophoren und legten ihre Phylogenie in großen Umrissen dar: sie waren vorwiegend theoretischen Charakters. Im Gegensatz dazu gewährte eine Arbeit von Haeusler (15) zum ersten Male einen Einblick in den tatsächlichen Werdeprozeß eines Thalamophorengenus. Mit Rücksicht auf unsere folgenden Erörterungen wollen wir zunächst etwas näher auf die Ergebnisse der Abhandlung Haeusler's eingehen.

Haeusler fand im oberen Lias von Banbury (Oxfordshire) eine Reihe von Ophthalmidien und Spirolokulinen, die zum großen Teil biform entwickelt waren und eine so große Variabilität zeigten, daß ihr Charakter als Übergangsformen unverkennbar zutage trat. Gleichzeitig mit ihnen kam *Nodobacularia tibia* (Parker und Jones)

vor, und es gelang Haeusler ohne Mühe, die gefundenen Formen so in einer Reihe anzuordnen, daß eine lückenlose Kette von Entwicklungsstufen entstand, die von *Nodobacularia tibia* zu *Ophthalmidium* einerseits und *Spiroloculina* andererseits hinüberleitete. Neben dieser interessanten Aufdeckung der Entwicklungsgeschichte von *Spiroloculina* und *Ophthalmidium* gab Haeusler in derselben Arbeit noch die phylogenetische Ableitung von *Nubecularia* aus *Ophthalmidium* mit Hilfe der Zwischenform *Ophthalmidium nubeculariforme* Haeusler. Die von Haeusler seiner Arbeit beigegebenen Figuren sprechen eine so beredte Sprache, daß an der Richtigkeit der im Text niedergelegten Ansichten kein Zweifel bestehen kann.

Wir können es uns nicht versagen, die erwähnten Befunde Haeusler's vom Standpunkte der Rhumbler'schen Ideen aus noch eingehender zu betrachten und einige ergänzende Bemerkungen dazu zu geben. Was zunächst den Ausgangspunkt der Entwicklung, das Genus *Nodobacularia,* angeht, so wird dies von Rhumbler phylogenetisch auf *Nodosinella* zurückgeführt (18, S. 85) und dadurch der Anschluß an die Sandschaler nach rückwärts hin erreicht. Die Entstehung der biformen Spezies erklärt sich folgendermaßen. Die ursprünglich gerade oder nur wenig gekrümmte *Nodobacularia tibia* begann sich spiralig einzurollen und so zu einem höher entwickelten Bauplan überzugehen. Dabei blieb das Wachstumsende anfangs noch gestreckt, weil zunächst die erste Schalenanlage einer größeren Festigkeit bedurfte, die späteren, größeren und widerstandsfähigeren Kammern aber vor der Hand noch nach dem alten Bauplane angelegt werden konnten und erst allmählich aus der geraden in die spiralige Form übergingen. Die so entstandenen biformen Entwicklungsstufen, z. B. *Ophthalmidium walfordi* Haeusler, zeigen deutlich die phylogenetisch abfallende Schalenontogenie, indem die letzten Kammern (oft nur eine) einen Rückschlag zur Ahnenstufe der *Nodobacularia tibia* bilden. Allmählich verloren aber diese bischofsstabähnlichen Formen ihren Übergangscharakter, gaben die Biformität auf und schlugen nun zwei verschiedene Entwicklungswege ein. Der erste, zu *Spiroloculina* führend, ist gekennzeichnet durch das Auftreten langgestreckter Formen, deren Gestalt durch einen regelmäßigen Wechsel in der Richtung des Kammerwachstums an zwei einander gegenüberliegenden Punkten der Schale (sog. miliolinides Wachstum) bedingt wird. Der zweite Weg ist bezeichnet durch mehr oder minder runde Exemplare und endigt in dem Genus *Nubecularia.*

Die Zweckmäßigkeit des Baues der Spirolokulinen, welche die Kammermündungen an zwei einander gegenüberliegenden Stellen

der Schale in der erwähnten Weise abwechselnd anlegen, muß man darin suchen, daß so eine feste Achse geschaffen wird, an deren beiden Seiten sich die Kammern entlangziehen. Die nebenstehende Figur A versucht diese Verhältnisse anschaulich zu machen. Wir werden weiter unten auf eine ganz analoge Erscheinung bei Gelegenheit der Besprechung von *Biloculina* stoßen. Hier sei nur noch erwähnt, daß bereits Burbach (13) vor Haeusler aus dem Lias des großen Seeberges bei Gotha mehrere Ophthalmidien und Spirolokulinen beschrieb, die ebenfalls eine sehr variable Gestalt besaßen und daher auch Burbach den Gedanken nahelegten, phylogenetische Schlüsse aus ihnen zu ziehen. Indessen das Fehlen von *Nodobacularia tibia* in dieser Schicht brachte Burbach auf eine falsche Fährte. Er leitete *Ophthalmidium* von *Cornuspira* ab, ein Versuch, der seit dem Erscheinen der Haeusler'schen Arbeit als mißlungen gelten muß.



Fig. A.

Die soeben besprochene Arbeit von Haeusler hat mir als Vorbild gedient bei einer Untersuchung, über die ich jetzt näher berichten will. Ich werde den Befunden Haeusler's ganz analoge Beobachtungen an die Seite stellen, die ich an geschlämmtem Thalamophorenmaterial machen konnte, das aus der Ziegeleigrube am Galgenberg bei Hildesheim stammt. Der Ton, der hier zur Ziegelfabrikation verwendet wird, gehört der Zone des *Stephanoceras* (*Macrocephalites*) *macrocephalus* und somit der Tiefstufe des oberen braunen Jura an. Es gelang mir, Vertreter der Thalamophorenfauna dieser Schicht in einer Reihe anzuordnen, die ganz wie bei der Haeusler-schen Arbeit die stufenweise Umwandlung eines Genus in ein anderes erkennen läßt. Und zwar handelt es sich hier um die phylogenetische Entwicklung der Gattung *Cornuspira*. Die beigegebene Textfig. B (p. 39) bringt die Abbildungen einiger Hauptstufen der in Rede stehenden phylogenetischen Reihe. Wir wollen an der Hand der Figuren versuchen, uns ein Bild von dem vorliegenden Entwicklungsprozeß zu machen, vorher jedoch noch betreffs des Erhaltungszustandes bemerken, daß fast alle Thalamophoren des erwähnten Fundortes ganz oder teilweise mit Eisenkies ausgefüllt sind. Diese Einlagerungen von Eisenkies, die Rhumbler (16) eingehend beschrieben und erklärt hat, machen die damit behafteten Objekte für die mikroskopische Beobachtung mit durchfallendem Licht undurchsichtig. Die in unserem Falle in Betracht kommenden Sandröhren erscheinen daher

schwarz, bei der Beobachtung mit auffallendem Licht dagegen metallglänzend.

Der bereits angedeutete Entwicklungsprozeß, der nunmehr beschrieben werden soll, nimmt seinen Ausgang von einer sandschaligen Form, *Tolypammina vagans* (Brady) (12, t. 24 f. 1 u. 2). Diese Spezies bildet eine einfache Röhre, deren Embryonalteil geschlossen ist. Das Wachstum erfolgt durch Anlagerung und Verkittung von Sandkörnern an dem offenen Röhrenende und ist ein kontinuierliches Trichterwachstum. Die Zunahme des Röhrendurchmessers mit dem Alter des Tieres ist gering, häufig sogar ganz unmerklich. Das Tier lebt angeheftet auf dünnen Plättchen aus Kalk (Trümmer von Molluskenschalen) und zeigt in seinen unregelmäßigen Windungen noch keinerlei Gesetzmäßigkeit des Baues. Diese recht primitive Form, durch Fig. B, 1 dargestellt, konnte auf verschiedene Weisen zu einem festeren und damit in der Entwicklung höher stehenden Bauplan übergehen. Es konnte entweder das sog. Knäuelwachstum eintreten, wobei sich die Röhre regellos, wie Garn zu einem Knäuel, aufwickelt, oder spiralige Einrollung in einer Ebene stattfinden. Die Spirale kommt bei sehr vielen Gattungen der Thalamophoren vor, erfreut sich aber auch sonst in der gesamten organischen Welt einer weiten Verbreitung, man denke nur an die Schalen der Mollusken. Die Vorteile des spiraligen Wachstums liegen außer in der größeren Festigkeit in der Verkleinerung der Oberfläche und der Ersparnis an Baumaterial, wie wir weiter unten sehen werden.

Der erste der beiden angedeuteten Wege, das Knäuelwachstum, ist in dem vorliegenden Falle der *Tolypammina vagans* nicht eingeschlagen worden. Dies läßt sich wohl darauf zurückführen, daß diese Art des Wachstums dem Atmungsbedürfnis nicht genügend Rechnung trägt, da die innersten Windungen völlig von der Kommunikation mit der Außenwelt abgeschlossen werden würden. *Tolypammina vagans* ging also zur spiraligen Einrollung über. Es ist von großem Interesse an den einzelnen Übergangsstadien zu verfolgen, wie nach mannigfachem Tasten und Probieren sich der reinspiralige Bildungstypus entwickelt hat. Zunächst trat eine sehr merkwürdige Erscheinung auf. Man sieht nämlich, wenn man eine Röhre vom Anfang bis zum Ende auf ihrem Linienzuge verfolgt, wie plötzlich in der Wachstumsrichtung ein Umbiegen um 180° eintritt (Fig. B, 2). Den Schlüssel zur Erklärung dieser zunächst unverständlichen Erscheinung liefert die Beobachtung, daß die erwähnten Umkehrpunkte ziemlich in gerader Linie nebeneinander liegen. Man wird so unwillkürlich zu der Vermutung geführt, daß ursprünglich die Nähe

des Randes des Kalkplättchens, auf dem das Tier lebte, die Umkehr der Röhre bedingte. Später vererbte sich diese eigenartige Bauart,

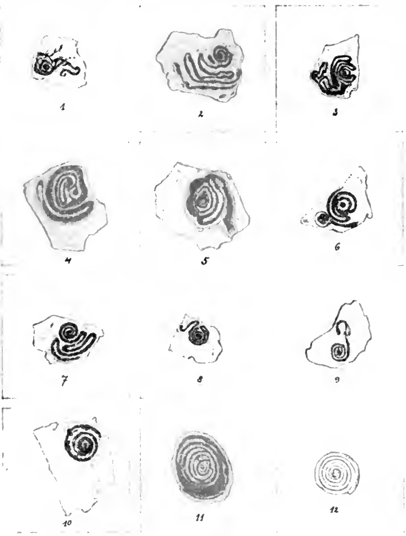


Fig. B.

und nun machte die Natur aus der Not eine Tugend: die Wand der vorher angelegten Röhre wurde, gewissermaßen auf dem Rückwege,

als seitlicher Schutz benutzt. Bei Fig. B, 2 ist dies noch nicht geschehen, bei Fig. B, 3—5 jedoch tritt es deutlich hervor. Dies und der allmählich sich der Kreisform nähernde Umriß waren die beiden ersten Schritte in der Entwicklung nach aufwärts.

Bis hierher kann, wie wir sehen, von einem eigentlich spiraligen Wachstum noch nicht die Rede sein. Dennoch liegen die Anfänge desselben schon vor. Jedenfalls mußte sich die Bauart der in Fig. 3—5 dargestellten Exemplare bewähren, weil sie gegen früher nicht zu unterschätzende Vorteile bot: Der sich der Kreisform nähernde Umriß enthielt bei gleicher Länge des Perimeters einen größeren Flächenraum als die unregelmäßig gebildeten Anfangsformen. Das innige Anschmiegen späterer Röhrenteile an früher angelegte Partien desselben Tieres brachte Ersparnis an Baumaterial mit sich, weil die bereits vorhandene Röhrenwand bei Weiterbau zum Teil mitbenutzt werden konnte. Andererseits wurde aber auch die Festigkeit vermehrt und die der Umgebung dargebotene Angriffsfläche verkleinert. Vorher nämlich war jede Röhre nach beiden Seiten und nach oben ungeschützt, jetzt aber blieb nur noch die Oberseite frei. Nur ein Nachteil war noch zu beseitigen: die mehr oder minder scharfen Ecken, die durch jene eigenartige Bauweise entstanden waren, welche in dem oben geschilderten plötzlichen Richtungswechsel des Wachstums bestand. Jeder Vorsprung an Körpern bildet einen Angriffspunkt für Kräfte, die zu Zerstörungen an dieser Stelle Veranlassung geben können. Die Notwendigkeit, die erworbenen Vorteile, Materialersparnis und vermehrten Schutz bei größerer Festigkeit, zu erhalten, scharfe Ecken dagegen zu vermeiden, führte konsequenterweise zur spiraligen Bauart. Nur diese konnte sich aus den vorhandenen Bedingungen mit immer größerer Bestimmtheit herausbilden.

Wie Rhumbler (21) nachgewiesen hat, bedarf der Embryonalteil der Thalamophorenschale besonderer Festigkeit zur Erhaltung seiner Existenz. Diese Tatsache bildet den Grund für das Auftreten von Neubildungen am Embryonalende. So trat auch in dem von uns behandelten Falle der spiralige Bau zuerst in der Jugend auf. Das Wachstumsende dagegen kehrte zunächst noch zu der alten Bauart zurück: es entstanden biforme Exemplare mit phylogenetisch abfallender Schalenontogenie. Fig. B, 6—9.

Allmählich verlor sich aber dieser unzweckmäßige Atavismus am Wachstumsende und es blieb der rein spiralig ausgebildete Bau übrig (Fig. B, 10). Um von dieser Form zu *Cornuspira* zu kommen.

ist nur noch ein Schritt nötig: Wechsel des Schalenmaterials.[1]) Der Wechsel im Baumaterial bedeutet natürlich wieder eine Vervollkommnung der Schale, welche von der Festigkeitsauslese aufgegriffen und allgemein durchgeführt wurde. Fig. B, 11 hat bereits eine Kalkschale, zeigt aber noch nicht den charakteristischen Typus einer *Cornuspira*, sondern dürfte noch als Übergangsglied zu der letztgenannten Gattung anzusehen sein. Fig. B, 12 endlich stellt eine echte *Cornuspira* dar, die ich mit *Cornuspira orbicula* Tq. und Berth. (6, t. 11 f. 12) identifiziert habe.

Mit *Cornuspira orbicula* ist höchstwahrscheinlich *Spirillina tenuissima* Gümbel (2, t. 4 f. 12) aus dem Malm identisch, welche Schwager etwas später im Lias wiederfand und als *Cornuspira tenuissima* (Gümbel) abbildete (3, t. 2 f. 5). Da nun *Spirillina* perforiert ist, *Cornuspira* dagegen nichtporöse Schalenwände besitzt, so müssen wir annehmen, daß *Cornuspira tenuissima* (Gümbel), im Lias noch unperforiert, die Perforation wahrscheinlich aus Gründen des Atmungsbedürfnisses erworben hat und im Malm in dieser vollkommeneren Ausbildung nun als *Spirillina* auftrat. Wir fassen also *Cornuspira* als eine Vorstufe von *Spirillina* auf. Bei der früheren Einteilung der Thalamophoren in Perforata und Imperforata wurden somit im vorliegenden Falle nahe Verwandte getrennt und an ganz verschiedenen Stellen des Systems untergebracht. Es ist interessant, festzustellen, daß dieser Mißstand bereits ziemlich früh erkannt wurde. Schon Zwingli und Kübler (4, S. 45) wollten *Spirillina* und *Cornuspira* nicht als zwei verschiedene Genera gelten lassen und hielten den Mangel oder das Vorhandensein der Perforation nur für ein Merkmal zur Unterscheidung der Spezies. Aber auch Steinmann (11, S. 38, Anm. 17) erkannte die Zusammengehörigkeit von *Spirillina* und *Cornuspira* und konnte sich nicht entschließen, beide von einander zu trennen — ein für den damaligen Stand der Systematik der Thalamophoren immerhin kühner Schritt.

Es könnte den Anschein haben, als sei es meine Absicht gewesen, *Cornuspira orbicula*, also Fig. B, 12, aus Fig. B, 11 direkt abzuleiten. Dies lag mir jedoch ganz fern. Sollte ich eine *Cornuspira*-Spezies angeben, die unserer durch Fig. B. 11 dargestellten Übergangsform nahe steht, und welche daher als ihr direkter Nachkomme gelten könnte. so würde ich vielmehr *Cornuspira numismalis* (Terq.

[1]) Der Übergang von der Sandschaligkeit zur Kalkschaligkeit ist durchaus nichts Ungewöhnliches. Sehen wir von fossilen Beispielen für diese Erscheinung ab, so sind es besonders rezente Textulariden, die bald in kalkschaliger bald in sandschaliger Schalentextur auftreten.

und Berth.) (6, t. 11 f. 13) oder *Cornuspira infraoolithica* Tq. (I. 3. mém. oolith. t. 25 f. 13) nennen. Da diese Formen aber in der untersuchten Tonschicht, aus der die Exemplare für unsere Abbildungen stammen, nicht vorkommen, sondern nur *Cornuspira orbicula*, so habe ich auch nur diese Spezies als Vertreter des Genus, welches den Endpunkt der beschriebenen Entwicklung bildet, hier bildlich angeführt.

Ziehen wir das Fazit aus den bisherigen auf diesen Punkt bezüglichen Erörterungen, so sahen wir, wie Tolypammina zur Jurazeit Variationen zeigte, die unter dem Einfluß der Festigkeitsauslese den Übergang zum spiraligen Wachstum bewirkten. Indem der neue Bauplan vorläufig nur am Primordialende realisiert wurde, entstand zunächst Biformität der Ausbildung, die sich aber allmählich verlor und nach Wechsel im Schalenmaterial dem Genus *Cornuspira* seine Entstehung gab. Vergleicht man dies Resultat mit dem der erwähnten Arbeit von Haeusler (15), so ist die Übereinstimmung im Gedankengang hier wie dort zu deutlich ins Auge fallend, als daß es noch nötig wäre, weiter darauf einzugehen. Diese Übereinstimmung ist keine erzwungene, sondern ergibt sich aus den Tatsachen, wenngleich ich natürlich die Absicht, sie noch deutlicher herauszuarbeiten, zugeben muß.

Wir müssen nun noch zwei Einwänden begegnen, die beide geeignet scheinen, das Resultat unserer Untersuchung in Frage zu stellen. Man könnte nämlich fragen, wie ist das Vorkommen von *Cornuspira* im Lias möglich, wenn dies Genus erst im Dogger entstanden sein soll? und zweitens, wie kann man unter diesen Umständen das Auftreten von *Cornuspira* und *Spirillina* sogar schon im Karbon erklären? Wir wollen beide Fragen zu beantworten suchen.

Prüfen wir zuerst die Unterlagen der zweiten Frage, so muß allerdings zugegeben werden, daß *Cornuspira* und *Spirillina* im Karbon vorkommen. Steinmann bildet (10, t. 19 f. 1) *Cornuspira carbonaria* Steinmann aus dem Kohlenkalk von Altwasser in Schlesien ab, und V. von Möller (8) beschreibt nicht weniger als vier verschiedene Spezies von *Spirillina* aus dem russischen Kohlenkalk, deren Form durchaus charakteristisch und deren Perforation deutlich erkennbar ist. Wir können demnach an der Existenz von *Cornuspira* und echten *Spirillinen* zur Karbonzeit nicht zweifeln. Steigen wir aber von der Steinkohlenformation in die höheren geologischen Horizonte auf, so bemerken wir, daß *Cornuspira* und *Spirillina* völlig fehlen und erst wieder im Jura vorkommen, und zwar zuerst *Cornuspira* im Lias, dann *Spirillina* im Dogger. Daraus folgt, daß die beiden erwähnten Genera nach dem Karbon ausgestorben waren — wie dies ja auch

mit vielen anderen Gattungen (*Fusulina*, *Endothyra* u. a.), die im Kohlenkalk prädominierten, der Fall ist — und sich erst in der Juraperiode in der oben beschriebenen Weise aus *Tolypammina* wieder entwickelten. Die Möglichkeit eines solchen Schlusses, der vielleicht, oberflächlich betrachtet, etwas Gewagtes an sich zu haben scheint, ist bereits früher von Rhumbler (18, S. 63—64) bei Gelegenheit der Besprechung der biformen Arten zugegeben worden. Es soll hier auch nicht unerwähnt bleiben, daß Jickeli (22, S. 339) aus ganz allgemeinen, entwicklungstheoretischen Gründen bestreitet, daß eine Gattung sich durch so große Zeiträume hindurch unverändert erhalten könne, wie es bei *Cornuspira* im vorliegenden Falle angenommen werden müßte.

Ich möchte hier den Gedankengang auf kurze Zeit unterbrechen, um eine allgemeinere Bemerkung einzuschalten; es soll nämlich auf zwei Erscheinungen hingewiesen werden, die sich in so prägnanter Ausbildung wohl bei keiner anderen Tiergruppe als gerade bei den Thalamophoren beobachten lassen. Ich meine die exorbitante Langlebigkeit mancher Spezies, wie z. B. *Lagena laevis* und *Lagena sulcata* neben *Truncatulina lobata* u. a. (vgl. 17, S. 184), und die kolossale Variabilität der Formen [1]) (vgl. 14, S. 170). Das Zusammentreffen dieser beiden Erscheinungen bei derselben Tiergruppe scheint mir kein zufälliges zu sein. Die Formenmannigfaltigkeit, durch die Einfachheit der Organisation ermöglicht, veranlaßt vielmehr das Wiederauftreten gleicher Gestalten zu verschiedenen, zeitlich weitgetrennten Perioden der Erdgeschichte. Und zwar werden sich natürlich solche Gestalten häufiger wiederholen, welche auf Grund der Festigkeitsauslese den gestellten Anforderungen im Kampf ums Dasein am vollkommensten entsprechen. Dabei kann es vorkommen, daß gleiche Formen, in verschiedenen geologischen Schichten auftretend, sich aus verschiedenen Vorfahren entwickelt haben, und ihre Ähnlichkeit als mechanische Konvergenzerscheinung zu erklären ist.

Fassen wir, den Faden der obigen Erörterungen wiederaufnehmend, das Gesagte zusammen, so scheint die Annahme zweier zeitlich getrennter, von verschiedenen Wurzeln ausgehender Entwicklungsreihen, die beide zur Entstehung derselben, „*Cornuspira*“ genannten, Schalenform führen, durchaus plausibel. Daraus schließen wir weiter, daß auch im Kohlenkalk ebenso wie im Jura *Spirillina* aus *Cornuspira* durch Erwerbung der Porosität hervorgegangen ist.

[1]) Das schönste Beispiel für die Variabilität der Formen bietet wohl die Gattung *Peneroplis*. Vgl. Fr. Dreyer, *Peneroplis*. Eine Studie zur biologischen Morphologie und zur Speziesfrage. Leipzig 1898.

Was nun den ersten der oben gemachten Einwände betrifft, das frühe Erscheinen von *Cornuspira* in der Juraperiode, so glauben wir ihn ungleich leichter entkräften zu können. Die chronologische Schwierigkeit, daß die Übergangsglieder zwischen *Tolypammina* und *Cornuspira* im Dogger vorkommen, *Cornuspira* selbst dagegen schon im Lias, besteht nur scheinbar und läßt sich dadurch erklären, daß mit dem Einsetzen der Juraformation ein Aufschwung in der Entwicklung des Genus *Tolypammina* eintrat, und so die Gattung *Cornuspira* entstand, die Übergangsformen aber neben den Neubildungen noch weiter bis in die Doggerablagernngen hinein lebten und erst allmählich ausstarben. Eine analoge Erscheinung liegt vor bei dem Entwicklungsprozeß von *Spiroloculina* usw. aus *Nodobacularia tibia*, den Haeusler aus dem Lias von Banbury beschrieb. Viele der von Haeusler abgebildeten Übergangsstufen habe ich im Dogger bei Hildesheim wiedergefunden. —

Aus *Spirillina* bildete sich nach Rhumbler (18, S. 85) in der Kreide die Patellinenform heraus, welche ihre höhere Organisation durch konische Gestalt und die Kammerung dartut. Die Vorteile, welche die Kammerung durch Einführung des periodischen Wachstums mit sich bringt, hat Rhumbler zur Genüge klargestellt (18, S. 73), und außerdem eine deutliche Zwischenform zwischen *Spirillina* und *Patellina* aufgefunden. Er entdeckte nämlich im Thalamophorenmaterial der deutschen Planktonexpedition eine neue *Spirillina*, die durch säckchenartige Ausstülpungen wie bei *Patellina* charakterisiert ist, und die ihn veranlaßte, *Patellina* zu den Spirilliniden zu stellen (18, S. 61 u. 85). Dem Gedanken Rhumbler's, *Patellina* von *Spirillina* abzuleiten, den wir für zweifellos richtig halten, schloß sich auch Schaudinn (20, S. 181) an. Wir haben somit in der Reihe: *Tolypammina*, *Cornuspira*, *Spirillina*, *Patellina* einen Entwicklungszweig der Thalamophoren vor uns, dessen Vertreter paläontologisch aufeinanderfolgen, und dessen innerer Zusammenhang durch eine lückenlose Kette von Zwischenstufen verbürgt ist.

In derselben Beziehung wie *Patellina* zu *Spirillina* steht das von Terquem 1862 aufgestellte Genus *Involutina* (1. 2. mém. du Lias, S. 426 u. 450) zu *Ammodiscus*. Das Genus *Involutina* Terquem wurde 1874 durch Bornemann (5) einer kritischen Durchsicht unterzogen und als chaotisch erkannt. Bornemann teilte die hierher gehörigen Spezies in 4 Gruppen, von denen die erste *Ammodiscus* zugewiesen wurde; die beiden mittleren Gruppen erhielten als neue, selbständige Gattungen auch neue Namen, *Silicina* und *Problematina*, während die letzte die ursprüngliche Bezeichnung *Involutina* beibehielt.

Die erste Gruppe, zu der *Ammodiscus siliceus* [Tq.] und *Ammodiscus asper* [Tq.] gehören, besitzt wie *Ammodiscus* eine kieselige Schale mit spiraliger Aufwindung, doch ist die Röhre innen durch halbe Querwände in unechte Kammern geteilt. Betrachten wir dies Auftreten halber Querwände vom phylogenetischen Standpunkte aus, so müssen wir es als Versuch, die Kammerung einzuführen, und damit als einen Schritt nach vorwärts in der Entwicklung ansehen. Der Vorteil, den das Kammerwachstum im vorliegenden Falle (aber auch sonst häufig) mit sich bringt, ist ein doppelter. Einmal werden die Störungen, welche die Bautätigkeit hervorruft, auf gewisse Perioden beschränkt, andererseits erfährt das Gehäuse eine bedeutende Festigkeitssteigerung, weil die Schalenwand von Zeit zu Zeit durch Quersepta gestützt wird. Fragen wir uns nach dem Anlaß dieser Weiterbildung des Schalenbaues, so dürften ihn einzelne Individuen gegeben haben, welche die Mündungsöffnung mit einem kleineren Querschnitt anlegten, als die ganze Röhre. Mag dies nun aus Zufall — etwa durch in der Nähe liegende Fremdkörper, die im Wege waren — geschehen sein oder in dem Bestreben, sich vor äußeren schädlichen Einflüssen nach Möglichkeit zu schützen, jedenfalls zwang diese Neuerung geradezu zum periodischen Wachstum. Ein stetiges Weiterbauen in der Richtung des letzten äußeren Röhrenendes hätte bei Individuen mit verengerter Schalenmündung zum völligen Verschluß des Gehäuses führen müssen. Die Bautätigkeit wurde also zunächst sistiert, während das Tier weiter wuchs. Es entstand so ein Mißverhältnis zwischen dem Rauminhalt des Gehäuses und der Größe seines Bewohners: ein Anbau wurde nötig, und die Sarkode mußte in größerer Menge austreten, um ein neues Schalensegment anzulegen.

Wenn nun auch die Vorteile dieses periodischen Wachstums, dessen Anfänge uns die erwähnten Formen, *Ammodiscus siliceus* und *Ammodiscus asper* deutlich vor Augen führen, einen unzweifelhaften Fortschritt bedeuten und somit eigentlich schon über die Gattung *Ammodiscus* hinausführen, so hat Bornemann doch recht daran getan, beide Spezies bei *Ammodiscus* stehen zu lassen. Die Nomenklatur der Thalamophoren ist schon kompliziert genug, und es bedarf nicht der Neubenennung von Formen mit relativ geringen Schalenvariationen. Andererseits scheint mir allerdings Brady's Maßnahme, die beiden erwähnten Spezies mit *Ammodiscus incertus* d'Orb. (12, S. 330) zu identifizieren, in der entgegengesetzten Richtung zu weit zu gehen.

Bei der zweiten und vierten der vier Gruppen, in die Bornemann

das TERQUEM'sche Genus *Involutina* aufgelöst hat, finden wir die Eigentümlichkeit, daß meist nur der letzte Umgang der Spirale sichtbar ist, alle übrigen Windungen sind durch sekundär aufgelagerte Schalensubstanz verdeckt. Hierdurch wird der äußere Habitus sehr verändert: die Oberfläche, bei *Ammodiscus* noch wellig, ist glatt geworden. Die Auflagerung sekundären Schalenmaterials, die wir auch sonst z. B. bei *Patellina* (20, S. 182) finden, vermehrt die Wanddicke und somit die Festigkeit. Die beiden Gruppen *Silicina* BORN. und *Involutina* BORN. bleiben im übrigen auf der Ausbildungsstufe halber Querwände stehen.

Die Einführung ganzer Querwände und damit echter Kammern vollzog sich erst an der dritten BORNEMANN'schen Gruppe, die den Namen *Problematina* erhielt. Bei diesem Genus haben wir noch eine weitere Neubildung zu verzeichnen, die Kegelgestalt, die besonders bei *Problematina petraea* (1, 5. mém. du Lias, t. 18. f. 17) hervortritt, und über deren Zweckmäßigkeit wir kein Wort zu verlieren brauchen — man denke nur an die Schalenbildung und deren Vorteile bei der bekannten Gattung *Patella* unter den Mollusken.

Das folgende Schema veranschaulicht den geschilderten Gang der Entwicklung:

keine oder halbe Querwände . . .	*Ammodiscus* . .	Umgänge sichtbar
halbe Querwände	*Silicina* / *Involutina*	nur der letzte Umgang sichtbar
ganze Querwände	*Problematina*	

Fassen wir zusammen und vergleichen die Weiterbildungen miteinander, die von den isomorphen Gattungen *Spirillina* und *Ammodiscus* ausgegangen sind, so ergeben sich eigenartig weitgehende Übereinstimmungen. In beiden Fällen haben wir den Übergang zum echten Kammerwachstum, zur konischen Gestalt und die Auflagerung sekundären Schalenmateriales.

Es könnte den Anschein haben, als ob aus Spezies mit ungekammerter, in einer Ebene spiralig aufgerollter Röhre stets gekammerte konische Formen entstehen müßten. Denn wenn zwei isomorphe Genera wie *Ammodiscus* und *Spirillina*, die zwar in der Gestalt übereinstimmen, sonst aber nichts miteinander zu tun haben, denselben Entwicklungsweg einschlugen, so kann man in der Tat auf den Gedanken kommen, daß dieser Weg der Ausdruck einer mechanischen Gesetzmäßigkeit sei. Dem ist indessen nicht so. Wir kennen Thalamophorenformen, die sich auch von *Ammodiscus* ableiten, aber eine ganz andere Ausbildung erhalten haben. Zwei

Genera erwarben einen neuen, festeren Aufwindungsmodus und konnten daher auf die Einführung der Kammerung verzichten. Dies sind die Gattungen *Gordiammina* RHUMBLER (18, S. 84), deren Windungen nicht in einer Ebene bleiben, sondern sich knäuelartig aufwickeln, und *Turritellopsis* RHUMBLER (18, S. 84), deren Gehäuse dem einer Schnecke gleicht und um eine relativ lange Achse in regelmäßigen Spiralwindungen verläuft. Beide Genera wurden früher zu *Ammodiscus* gezählt. Eine andere Gruppe, die der Miliolininen, behielt zwar die ursprüngliche Windungsebene bei, führte aber die Kammerung ein und zwar in besonderer, für die ganze Gruppe charakteristischer Weise. Wir sehen also, daß das oben erwähnte Hervorgehen konischer Formen aus spiralig-ebenen durchaus nicht die einzige Entwicklungsmöglichkeit darstellt, sondern daß auch andere vorlagen. Ja noch mehr. Die *Involutina*-ähnlichen Formen scheinen in eine Sackgasse der Entwicklung geraten zu sein, denn seit dem Jura hat man nichts mehr von ihnen gehört. Der Zweig der Miliolininen aber hat sich als äußerst lebenskräftig erwiesen, und seine Ausläufer reichen mit großer Formenmannigfaltigkeit und Individuenzahl bis in die Jetztzeit. Es bedarf daher keiner besonderen Rechtfertigung, wenn wir auf die Phylogenie dieser Unterfamilie etwas näher eingehen und damit die Zahl der von uns verfolgten Entwicklungsreihen noch um eins vermehren.

NEUMAYR sah zuerst (14, S. 171) in gewissen Vertretern der Gattung *Trochammina* Übergangsstufen von *Ammodiscus* zu den Miliolininen. *Trochammina* bildete lange Zeit eine Rumpelkammer für die Systematiker, in welche man alle möglichen Formen warf, die sonst schlecht unterzubringen waren. Einen ähnlichen Fall haben wir bei den Metazoen im Tierkreis der Würmer. Indem nun NEUMAYR den Geltungsbereich von *Trochammina* bedeutend beschränkte, schied er gewisse Formen aus, die der neuen Gattung *Agathammina* zugewiesen wurden und seiner Meinung nach von *Ammodiscus* zu den Miliolininen hinüberleiteten. RHUMBLER schloß sich dieser Auffassung nicht an, sondern ließ in seinem Entwurf eines natürlichen Systems der Talamophoren (18) die Milioliden sämtlich aus den Nodosinelliden hervorgehen.

Sehen wir selbst zu, wie die Verhältnisse liegen. Schon im Karbon tritt eine Spezies auf, *Ammodiscus Roemeri* [STEINMANN] (10, t. 19. f. 2), die durch gewisse, wenn auch vorläufig nur angedeutete Einschnürungen ihrer Röhre die Tendenz zur Kammerbildung kundgibt. Diese Anfänge prägen sich in der rhätischen Stufe deutlicher aus an Formen, die CHAPMAN (19) beschrieb und

abbildete, und welche charakteristische Vertreter des Genus *Agathammina* NEUMAYR darstellen. Wir machen an ihnen ebenfalls die Bemerkung, daß sie von Zeit zu Zeit deutliche Einschnürungen bilden, die nur nicht mehr regellos, sondern stets an einander entgegengesetzten Stellen der Schale auftreten (vgl. 19, t. 11. f. 9).[1] Erinnern wir uns an die oben beschriebene Entstehung von *Spiroculina*, so sehen wir, daß hier eine durchaus analoge Erscheinung vorliegt. In der Tat ist es dasselbe treibende Prinzip, welches hier wie dort das „milioliuide" Wachstum hervorruft. Es bildet sich nämlich auf diesem Wege eine widerstandsfähigere, spindelförmige Gestalt heraus, die durch Gruppierung der Kammern um eine feste Längsachse noch an Halt gewinnt. Die Entstehung der festen Längsachse ist bedingt durch das alternierende Auftreten der Kammermündungen an entgegengesetzten Enden der Schale, womit größere Ablagerungen von Gehäusematerial an diesen Stellen verknüpft sind. Die Textfigur A auf Seite 37 versuchte dies klar zu machen. Bei den Miliolininen haben wir dann noch jenen eigentümlichen dornartigen Kalkfortsatz, der in die Mündung hineinragt und zum Schutz derselben dient; auch er trägt natürlich noch zu weiterer Verstärkung der Achse bei.

Verfolgen wir dann weiter die Zwischenstufen, die von *Ammodiscus* zu den Miliolininen führen, so schließen sich zunächst Formen mit folgerichtiger weiterer Ausprägung der angeführten Eigenschaften an, die CHAPMAN als *Ammodiscus robertsoni* (19, t. 11. f. 17. u. 16) anspricht. Zu den echten Miliolininen kann man dann schon *Triloculina variabilis* TQ. (1, 4. mém. ool. t. 35. f. 16) rechnen, die sich in bezug auf Gestalt und geologische Aufeinanderfolge an *Ammodiscus robertsoni* anschließt. Die Nachkommen dieser *Triloculina* oder ähnlicher Formen gingen zur kalkigen Schalentextur über und bildeten so die Basis, auf der sich die formenreiche Unterfamilie der Miliolininen aufbauen konnte.

RHUMBLER ist der Meinung (18, S. 68), daß die phylogenetische Entwicklung der Miliolininen durch die Reihe *Biloculina-Triloculina-Quinqueloculina* gegeben sei. Zwar lassen sich theoretische Gründe für diese Annahme anführen, doch scheinen mir die paläontologischen Tatsachen zu widersprechen. Denn TERQUEM beschreibt aus dem Jura (besonders 1, 4. mém. vol. t. 34 ff.) eine große Zahl von Vertretern der erwähnten Gruppe, und unter ihnen finden sich bereits deutlich ausgeprägte Quinqueloculinen, die nach RHUMBLER's Angaben erst in der Kreide vorkommen (18, S. 66

[1] Daneben kommen noch unsegmentierte Exemplare vor (l. c. t. 11. f. 8).

n. 88).[1]) Außerdem ist die Formenmannigfaltigkeit dieser Unterfamilie bereits im Jura so groß, daß man wohl annehmen muß, der Zweig der Miliolininen habe sich schon früh, d. h. bald nach seiner Entstehung in verschiedene Äste gegabelt, die seitdem parallel nebeneinander herliefen. Andererseits scheint es sogar, als ob die Miliolininen keine einheitliche Gruppe darstellten, denn das Erscheinen der biformen *Articulina* d'Orb. im Tertiär läßt auf einen Zuzug von seiten des Genus *Nodobacularia* schließen. Soviel steht wohl fest, daß der größte Teil aller Miliolininen im Sinne Neumayr's aus *Ammodiscus*-artigen Ahnen hervorgegangen ist, und daß höchstens seit der Tertiärzeit Nachkommen von *Nodobacularia* gleichfalls die miliolinide Ausbildnng erlangten, und so eine Fusion eintrat, die uns nicht mehr gestattet, beide angeführte konvergente Entwicklungsreihen reinlich zu scheiden.

Von *Biloculina* leitet sich *Fabularia* ab, die ihrem Gehäuse durch innere Stützkonstruktionen zu weiterer Festigkeit verhalf. Diese Maßnahme war um so nötiger, als gerade bei *Biloculina* durch die Involution flache, breite Kammern erzeugt wurden, deren Außenwände einer relativ großen Druckbeanspruchung ausgesetzt sind.

Zum Schluß sei über die gewonnenen phylogenetischen Resultate noch einiges im Zusammenhang gesagt. Was zunächst den Zeitpunkt betrifft, in dem die behandelten Entwicklungsprozesse vor sich gingen, so war dies in allen vier Fällen die Juraperiode. Wir können daraus schließen, daß in dieser Epoche der Erdgeschichte allgemein ein Aufschwung in der Entwicklung der Thalamophoren stattfand, und dieser Schluß wird bestätigt durch das erste Erscheinen auch anderer Genera wie z. B. *Cristellaria, Polymorphina, Lagena* zu dieser Zeit. — Prüfen wir ferner, ob unseren Untersuchungsresultaten ein Einfluß auf die Systematik der Thalamophoren zuerkannt werden muß. Zugrunde legen wir dabei das System der Foraminiferen, welches in dem bekannten Werke „Das Tierreich" innegehalten werden wird, und das teilweise schon im Archiv für Protistenkunde (Bd. III, 1904) durch Rhumbler veröffentlicht wurde. Es deckt sich übrigens, soweit bis jetzt ersichtlich, mit Rhumbler's Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren (18). Wir geben diesem System vor allen anderen den Vor-

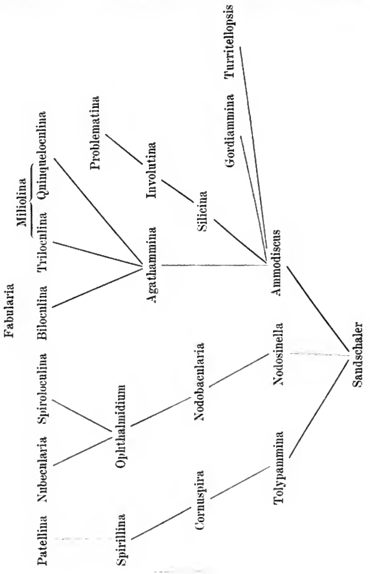
[1]) Mit Brady (12, S. 137—138) bin ich der Ansicht, daß eine Unterscheidung zwischen *Triloculina* und *Quinqueloculina* sich nicht aufrecht erhalten läßt; beide sind vielmehr in dem Genus *Miliolina* zusammenzufassen.

zug, weil es am meisten auf die phylogenetischen Verhältnisse Rücksicht nimmt, ja eigentlich nnr auf diesen basiert.

Zunächst muß *Spiroloculina* von den übrigen Miliolininen getrennt und nebst *Ophthalmidium* zu den Nubecularinen gestellt werden. Ferner wäre es wohl besser, *Cornuspira* unter den Spirilliniden einzureihen, zumal da dies Genus ohnehin schon unter den Ammodisciden ziemlich isoliert steht. Die *Involutina*-Gruppe dagegen, die Rhumbler zu den Spirilliniden zählt, nnd die sich, wie wir sahen, eng an *Ammodiscus* anschließt, würde nnter den Ammodisciden einen geeigneteren Platz finden; doch ist hierauf nicht weiter Gewicht zn legen, da sich *Involutina* nebst Verwandten nur fossil vorfindet. Die Geringfügigkeit dieser vorgeschlagenen systematischen Änderungen spricht für unsere obige Behauptnng, daß die von Rhumbler ausgearbeitete Klassifikation der Thalamophoren den natürlichen Verwandtschaftsverhältnissen derselben sehr nahe kommt. Im Gegensatz dazu sei eine Abhandlung von Steinmann (11) erwähnt, in der ein großer Teil der oben behandelten Gattungen zu einer Gruppe der *Agathistega* vereinigt wurde. Der dort konstruierte Stammbaum entspricht jedoch keineswegs den tatsächlichen Verhältnissen und zeigt nur, wie gefährlich es ist, auf Grund theoretischer Spekulationen über die bloße Form und Zusammensetzung des Gehäuses phylogenetische Schlüsse zu ziehen, ohne dieselben durch paläontologische Befunde und Aufsuchen von Übergangsformen zu kontrollieren. Und gerade bei den Thalamophoren liegt es infolge ihrer Formenmannigfaltigkeit und Variabilität besonders nahe, Anklänge in der äußeren Gestalt zu voreiligen Konstruktionen „natürlicher“ Gruppen zu benutzen.

Um trotz der vorliegenden verwickelten Verhältnisse dennoch zu richtigen phylogenetischen Resultaten zu gelangen, bedarf es der Anwendung jener Forschungsmethode, die sich zu gleichen Teilen aus Induktion und Deduktion zusammensetzt. Die Induktion geht von den objektiven Befunden aus und läßt sich durch die paläontologischen Tatsachen leiten, die Deduktion stützt sich auf allgemeine Prinzipien, die bei der Entwicklung des ganzen Thalamophorenstammes eine Rolle spielen. Solche Prinzipien sind besonders der Neumayr'sche Gedanke, daß alle Foraminiferenfamilien in letzter Linie auf agglutinierende Vorfahren zurückgehen, und die Rhumbler'sche Entdeckung, daß mechanische Probleme beim Gehäusebau eine hervorragende Rolle spielen. Daß es bei der Größe der zn überwindenden Schwierigkeiten dennoch gelang, wenigstens eine Übersicht, einen Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren aufzustellen — wenn auch im einzelnen noch vieles der Aufklärung

bedarf —, das verdankt die Wissenschaft eben den Ideen, welche Neumayr und Rhumbler bei ihren Arbeiten leiteten, und deren Richtigkeit wir in der vorliegenden Arbeit bestätigt zu haben glauben.



Literaturverzeichnis.

(Historisch geordnet.)

1) Terquem, O.: Recherches sur les Foraminifères du Lias et du Système Oolithique de la Moselle. 11 parties. Metz 1858—1882. Avec 65 plchs.

2) Gümbel: Die Streitberger Schwammlager und ihre Foraminifereneinschlüsse. Jahresh. d. Ver. für vaterl. Naturk. in Württemberg, Jahrg. 18, 1862.

3) Schwager: Beitrag zur Kenntnis der mikroskopischen Fauna jurassischer Schichten. Jahresh. d. Ver. für vaterl. Naturk. in Württemberg, Jahrg. 21, 1865.

4) Zwingli u. Kübler: Die Foraminiferen des schweiz. Jura. Winterthur 1870.

5) Bornemann, L. G.: Über die Foraminiferengattung Involutina. Zeitschr. d. d. g. G. Bd. 26. 1874.

6) Terquem u. Berthelin: Étude microscopique des marnes du Lias moyen d'Essey-lès-Nancy. Mém. de la Soc. géol. de France, II. sér. Tome X. 1874—1877.

7) Brady, H. B.: A monograph of carboniferous and permian Foraminifera (the genus Fusulina excepted). London 1876.

8) Möller, V. von: Die Foraminiferen des russischen Kohlenkalkes. Mém. de l'Acad. de St. Pétersbourg Sér. VII. vol. 27. 1879.

9) Schwager: Die paläontologische Entwicklung der Foraminiferen. Bronn, Klassen und Ordnungen des Tierreichs I, 1. 1880—1882.

10) Steinmann: Mikroskopische Tierreste aus dem deutschen Kohlenkalke. Zeitschr. d. d. g. G. Bd. 32. 1880.

11) —: Die Foraminiferengattung Nummoloculina n. g. Neues Jahrb. f. Mineralogie usw. Bd. 1. 1881.

12) Brady, H. B.: Report on the Foraminifera, in: Report on the scientific results of the exploring voyage of H. M. S. Challenger. Zoology Vol. IX. London 1884.

13) Burbach: Beiträge zur Kenntnis der Foraminiferen des mittleren Lias vom großen Seeberg bei Gotha. Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 59. 1886.

14) Neumayr, M.: Die natürlichen Verwandtschaftsverhältnisse der schalentragenden Foraminiferen. Sitz.-Ber. der k. Ak. d. Wiss. zu Wien, math.-naturw. Kl., Bd. 95. 1887.

15) Haeusler: Bemerkungen über einige liasische Milioliden. Neues Jahrb. f. Mineralogie usw. Bd. 1. 1887.

16) Rhumbler: Eisenkiesablagerungen im verwesenden Weichkörper von Foraminiferen usw. Nachr. v. d. k. Ges. d. Wiss. zu Göttingen 1892.

17) Haeckel, E.: Systematische Phylogenie. I. Teil. 1894.

18) Rhumbler: Entwurf eines natürlichen Systems der Thalamophoren. Nachr. v. d. k. Ges. d. Wiss. zu Göttingen, math.-phys. Kl., 1895.

19) Chapman, Fr.: On Rhaetic Foraminifera from Wedmore, in Somerset. Ann. & Mag. of Nat. Hist. ser. 6. vol. 16. 1895.

20) Schaudinn: Über Plastogamie bei Foraminiferen. Sitz.-Ber. d. Ges. naturf. Freunde zu Berlin 1895.

21) Rhumbler: Über die phylogenetisch abfallende Schalenontogenie der Foraminiferen und deren Erklärung. Verh. d. d. zool. Ges. Bd. 7. 1897.

22) Jickeli, C. F.: Die Unvollkommenheit des Stoffwechsels im Kampf ums Dasein. Berlin 1902.

Gestaltsänderung und Plasmoptyse.

Von
Ludwig Garbowski.

(Hierzu Tafel VI.)

So unvollständig und lückenhaft das Mitzuteilende ist, so wage ich doch, es zu veröffentlichen, einmal deshalb, weil ich verhindert bin, das Thema weiter und genauer zu verarbeiten, und zweitens, weil auch die erhaltenen Resultate manchen Lichtstrahl in das abenteuerliche Gebiet der Plasmoptyse zu werfen, manches Mißverständnis aufzulösen imstande zu sein scheinen

Die vorliegenden Untersuchungen habe ich als Stipendist des Galizischen Landesausschusses im botanischen Universitätslaboratorium in Basel ausgeführt.

Vibrio proteus.

I. Heuinfuskulturen.

Kultiviert man *Vibrio proteus* in einer alkalischen zuckerhaltigen Nährlösung, z. B. im Heuinfus, der mit Zucker und etwas Sodalösung versetzt ist, so bemerkt man, daß die Alkalität der Kulturflüssigkeit allmählich abnimmt, bis im Moment der maximalen Entwicklung (Trübung) ein Umschlag der Reaktion eintritt: die Flüssigkeit wird sauer und bleibt es bestehen; die weitere Entwicklung der Organismen wird gehemmt und die schon vorhandenen Individuen vergehen allmählich, was sich äußerlich durch die Klärung der Kulturflüssigkeit kennzeichnet. Diese Säurebildung ist von der Menge des vorhandenen

Zuckers direkt abhängig, wovon man sich überzeugen kann, indem man die Entwicklung des Organismus in Lösungen von verschiedenem Zuckergehalte verfolgt. Die Entwicklung ist aber auch in hohem Maße von der Menge des ausgesäten Materials abhängig. Man muß daher dafür sorgen, eine möglichst gleichmäßige Aussaat vorzunehmen, wenn man vergleichbare Resultate erhalten will. Zu diesem Zwecke habe ich so verfahren, daß ich mir zuerst eine Aufschwemmung des zur Aussaat bestimmten Materials in etwas Nährflüssigkeit darstellte, und erst von dieser in bekannter Weise mit der Öse überimpfte.' Es kam zur Untersuchung alkalischer Heuinfus ohne Zucker, mit 0,1, 1 und 10 Proz. Zuckerzusatz. Die 10 proz. Lösung war nach 14 Stunden (bei 32°) deutlich getrübt und wies auch schon eine schwachsaure Reaktion auf, während zu dieser Zeit in der 1 proz. Lösung nur eine ganz schwache Trübung zu bemerken war, und die Flüssigkeit reagierte hier ebenso wie in den äußerlich nicht veränderten anderen Röhrchen noch deutlich alkalisch. Eine schwachsaure Reaktion in der 1 proz. Lösung konnte man erst nach 40 Stunden wahrnehmen, die 0,1 proz. Lösung — gleichzeitig untersucht — war neutral, beide zeigten eine deutliche Trübung, während Heuinfus ohne Zuckerzusatz noch alkalisch reagierte und nicht getrübt war. Ein oder zwei Tage später tritt auch in der letzten Kultur ein Umschlag der Reaktion ein und die geringe (wegen Nährstoffmangel) Trübung verschwindet allmählich.

Die mikroskopische Untersuchung einer frisch geimpften flüssigen Kultur von *Vibrio proteus* zeigt in den Anfangsstadien der Entwicklung fast nur die gewöhnlichen Vibrionenformen. In den mehr konzentrierten Nährmedien (10 proz. Lösung) teilen sich die Vibrionen rascher und vollständiger.

Man sieht hier selten längere Ketten zusammenhängender Individuen, es überwiegt vielmehr die Gestalt der einzelnen — meist eben in Teilung begriffenen — Vibrionen; hier und da trifft man nicht lange, aus einigen Individuen (4—6) bestehende Kettchen.

In einer verdünnten Lösung (Heuinfus ohne Zucker) kommen die längeren Ketten viel öfter vor — offenbar infolge der gehemmten Entwicklung wegen Mangel an Nährstoff — und die Einzelindividuen sehen im Vergleich mit denjenigen der besser gezüchteten Familie kümmerlich aus.

Nach einigen Stunden[1] erscheinen in den Kulturen rundliche Gebilde, deren einige mit längeren oder kürzeren Anhängseln versehen sind; diese haften wie Schwänzchen an den unruhigen

[1]) Eine genaue Zeitangabe hat nach dem, was oben gesagt, keinen praktischen Wert.

Kügelchen und werden von ihnen mitgeschleppt (Taf. VI Fig. 1). Das Ganze macht den Eindruck eines eigentümlich gestalteten einheitlichen Organismus. Zuweilen gelingt es, Gestalten zu beobachten, deren Zustandekommen auf den ersten Blick ganz rätselhaft erscheint, z. B. eine große Kugel, an der eine lange Kette haftet oder Kugeln mit zwei, drei oder mehr Anhängseln zugleich (Taf. VI Fig. 2). Gleichzeitig sieht man, daß die Vibrionen immer mehr aufgeblähte Formen aufweisen bis zu vollkommen abgerundeten Kugeln, welche oft an der Oberfläche ein oder zwei hervorragende Körnchen tragen. Die Kugeln erscheinen später immer zahlreicher, sind unbeweglich und bilden scheinbar das letzte Stadium einer eigentümlichen degenerativen Entwicklung, welche sich im Kulturmedium abspielt. In einer wieder fast durchsichtig gewordenen zuckerhaltigen Heuinfuskultur sind keine beweglichen Formen mehr, nur die ruhig liegenden Kügelchen und einige dünne schwach gewundene Vibrionen, die fast Stäbchenform besitzen, zu sehen. Dieser Zustand trat z. B. in einer 10 proz. Zuckerlösungkultur am fünften Tage ein.

Der geschilderte allgemeine Entwicklungsgang gilt für die Bruttemperatur 32°. In Kulturen, welche bei Zimmertemperatur (ca. 20°) gehalten werden, tritt die Kugelbildung viel später und nur teilweise ein, so daß sogar in alten Kulturen noch viele Vibriogestalten sich finden.

Es fragt sich nun, wie entstehen die kugeligen Gestalten aus den normalen Vibrionenformen? Kommt hier eine Abrundung mit einer gewissen Aufblähung der Bakterienzelle zustande (Ansicht von Professor Ar. Meyer in Marburg), oder sind die beweglichen runden Gebilde die von den Vibrionen ausgeschiedenen sogenannten Plasmoptysekugeln (Ansicht von Professor Alfred Fischer in Basel)[1]?

II. Versuche mit Wirkung von Ammoniak und Essigsäure.

Die direkte Beobachtung im Hängetropfen, mag sie auch so lange und mit der größten Geduld vorgenommen werden, gibt keinen Aufschluß über die Entstehung der runden Gebilde aus den gewöhnlichen Vibrionen, denn die ersten Kügelchen, die zum Vorschein kommen, werden aus beweglichen Individuen gebildet und diese lassen sich in ihren Formveränderungen nicht verfolgen, die später erscheinenden ruhigen runden Individuen sind zwar durch ovale Zwischenformen mit den länglichen Gestalten verbunden, ihre Ent-

[1]) Siehe Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 1905—1906.

stehung aus den letzteren läßt sich aber unmittelbar nicht beobachten: überhaupt alle Gestalten im Hängetropfen verhalten sich in dieser Beziehung träge.

Da die Formveränderungen allem Anschein nach mit der allmählichen Säuerung des Kulturmediums im Zusammenhange stehen, so wäre vor allem die Wirkung von Säure und Alkali auf die Vibrionen zu untersuchen. Als Säure kam Essigsäure, als Base kam Ammoniak zur Anwendung. Die Beobachtung geschah auf folgende Weise. Das Deckgläschen mit einem Hängetropfen von 2 bis 3 mm Durchmesser wurde auf dem Objektträger mittels Fett so aufgeklebt, daß zwischen beiden ein Spalt von etwa $^1/_3$ mm Dicke freiblieb (die Spaltweite kann durch Unterlegen eines Papier- oder Kartonstreifens beim Aufkleben des Deckgläschens richtig und immer gleich gehalten werden). In diesen Spalt kam nun das entsprechende wirksame Agens, welches so den Verschluß der kleinen feuchten Kammer ausmachte. Auf solche Weise konnte die Wirkung der Säuerung resp. Alkalisierung des Mediums auf die Gestalt der Organismen vom ersten Moment an beobachtet werden, was eben der Zweck dieser Versuche war.

Es wurden untersucht die verschiedenen Heuinfuskulturen (0, 0,1, 1 und 10proz. Zuckerlösungen) in verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung. Die Stärke der zur Anwendung gekommenen Lösungen variierte zwischen 0,01 bis 1 Proz. CH_3COOH- resp. NH_3-Gehalt (vom Acid. acet. glaciale und Liquor ammonii caustici, der für 20 Proz. angenommen wurde, ausgehend).

Das allgemeine Resultat, welches sich von einer größeren Anzahl einzelner Beobachtungen ziehen ließ, ist folgendes:

In einer gewissen Wachstumsperiode, welche dem Zeitpunkt der maximalen Entwicklung (Trübung) vorangeht, als noch fast nur die normal geformten Vibrionen vorhanden sind und ihre Lebensfreude in den regen Bewegungen äußern, sind die Organismen besonders empfindlich, sowohl gegen eine Säure-, wie Ammoniakwirkung. Dieser Zeitpunkt kann schon nach 16 bis 20 Stunden (z. B. in einer 10proz. Zuckerlösungkultur bei 32°) aber auch viel später (erst nach 40 Stunden in einer 1proz. Zuckerlösungkultur) eintreten. Im Hängetropfen aus einer solchen Kultur, die sich eben trübt, aber noch alkalische Reaktion aufweist, läßt sich durch längere Einwirkung der Essigsäure- resp. Ammoniakdämpfe die Erscheinung einer deutlichen, wenn auch nicht allgemeinen Plasmoptyse hervorrufen. Die Konzentrationen der frisch bereiteten Säure- und Ammoniaklösungen, welche sich in der gewünschten Richtung erfolgreich erwiesen,

schwankten zwischen 0,1 bis 0,5 Proz., wobei allgemein, wegen der alkalischen Reaktion des Mediums selbst, eine stärkere Säure- (etwa 0,2 Proz.), als Ammoniakkonzentration (0,1 Proz.) nötig war. Die Konzentration der Säure konnte manchmal bis zu 1 Proz. gesteigert werden, während eine gleich starke Ammoniaklösung schon immer tödlich wirkte. Kurz nach dem Einlassen der Säurelösung in den Spalt bemerkt man eine fast allgemeine Hemmung der Beweglichkeit. Nach Verlauf einer gewissen Zeit, manchmal schon nach 10 bis 20 Minuten, manchmal aber erst nach $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden und darüber läßt sich bemerken, daß an den Enden einiger weniggliedriger Kettchen entweder einseitig, oder seltener von beiden Seiten winzige Pünktchen entstehen. Wegen der außerordentlichen Kleinheit der Objekte (gearbeitet wurde mit Leitz-Immersion und Okular 3) läßt sich das Auftreten dieser Pünktchen nicht eher bemerken, bis ihr Durchmesser die Dicke des Stäbchens eben zu übertreffen beginnt. Es wird auch die Beobachtung der Entstehung dieser Gebilde ganz bedeutend durch fast regelmäßiges Auftreten dunkler Körnchen an den Spitzen der Vibrionen erschwert. Immerhin lassen sich folgende Stadien notieren (Taf. VI Fig. 3):

a) ein liegendes Stäbchen von gleichmäßiger Dicke mit dem erwähnten sich abhebenden schwärzlichen Inhalt an den Enden;

b) an einem oder an beiden Enden tritt ein dunkles Körnchen mehr hervor, wobei man gleichzeitig den Eindruck einer kleinen Schwellung an dieser Stelle bekommt;

c) die Schwellung wird ganz deutlich und es entsteht an der Beobachtungsstelle ein Kügelchen, dessen Durchmesser die Stäbchendicke zwei bis drei bis mehrmals übersteigt.

Der Übergang von b zu c kann zuweilen direkt verfolgt werden. Man sieht alsdann, wie im Verlauf einer kurzen Zeit (etwa 2 bis 3 Minuten) das Körnchen sich zum Kügelchen aufbläht, wobei die Stäbchendicke scheinbar etwas abnimmt. Mit einem Ruck läßt sich zuweilen diese Kugelbildung durch Ersetzen der Säure in der Spaltöffnung mit Ammoniak zustande bringen, doch meistens wird auf diese Weise die anfängliche Säurewirkung aufgehoben und jede weitere Gestaltsänderung der Organismen paralysiert. Läßt man aber von vornherein Ammoniak allein andauernd wirken, so gelingt, wie gesagt, dasselbe wie mit Säure zu erreichen; nur wirkt Ammoniak nicht so bewegungshemmend, wie die Säure, was die Beobachtung begreiflicherweise erschwert. Es gelang mir auch viel öfter mit Säure eine deutliche Wirkung zu erzielen, als mit Ammoniak.

Wäre die geschilderte Wirkung der Essigsäure- resp. Ammoniak-

dämpfe die einzige, so könnte man vielleicht den Schluß ziehen, daß alle runden Gebilde in einer älteren flüssigen Kultur von *Vibrio proteus* auf diese Weise entstanden sind. Das ist aber nicht der Fall. Verhältnismäßig wenige Individuen lassen so deutlich die Kügelchen an ihren Enden entstehen. Die anderen — und das ist die Mehrzahl — werden in ihrer Form entweder gar nicht beeinflußt, oder aber runden sich selbst ab ohne zu plasmoptieren. Dieser letzte Vorgang tritt am besten im Hängetropfen einer solchen Kultur zum Vorschein, die neben den gestreckten Formen noch etwas aufgeblähte Gestalten enthält, welche noch deutlich ihre beiden Durchmesser erkennen lassen. Diese sind es, welche nach der entsprechenden Wirkungszeit der obengenannten Agentien zum Teil verschwinden und zu gesetzmäßig abgerundeten Kugeln werden (Taf. VI Fig. 4) mit einem oder noch öfter mit zweien an ihrer Oberfläche sich abhebenden Pünktchen. Die unmittelbare Entstehung dieser Abrundungskugeln aus den Vibrionen konnte ich bei diesen Versuchen nicht verfolgen. Es ist aber noch eine Gestalt, welche zuweilen nach der Säure- resp. NH_3-Wirkung zum Vorschein kommt und welche unzweifelhaft die Plasmoptyse ausschließt, das ist die einer Reihe nebeneinander gelagerter Kügelchen, welche aus einer Kette noch nicht getrennter aufgeblähter Vibrionen entstanden ist (Taf. VI Fig. 5).

Nach dem, was gesagt ist, drängt sich schon jetzt der Schluß auf, daß die beiden Vorgänge — Abrundung und Plasmoptyse — in den Kulturen sich nebeneinander abspielen, daß vielleicht der eine (Plasmoptyse) durch den anderen (Abrundung) gedeckt wird und wenn z. B. die Bilder auf Fig. 2 gewiß für ein bloßes Anhaften von Vibrionen und Vibrionenketten an abgerundeten und aufgeblähten Kugeln sprechen, so ist wieder die Entstehung eines Kügelchens am Ende der kurzen Kettchen, wie Fig. 3 darstellt, auch bewiesen. Solche Bilder, wie Fig. 1, lassen a priori kein Urteil zu: entstand das Kügelchen aus dem ausgepreßten und aufgeblähten Inhalte des Stäbchens, oder stellt es eine Abrundungskugel dar, an welcher ein anderer Organismus nur oberflächlich festgeklebt ist.

Aus den Versuchen hat sich ferner kein prinzipieller Unterschied in der Wirkung von Essigsäure und Ammoniak auf die Formveränderung von *Vibrio proteus* ergeben. Man konnte sich mehrmals überzeugen, daß die gleichen Gestalten ebenso bei saurer wie auch bei alkalischer Reaktion des Hängetropfens auftreten.

Professor ALFRED FISCHER[1]) unterscheidet zwei Arten von Ab-

[1]) Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXII S. 57.

rundungskugeln bei *Vibrio proteus*. Die einen sollen sich durch NH_3 wieder zu den Vibrionen regenerieren lassen, die anderen in dieser Beziehung sich träge verhalten: „Nur die reinen, anhangslosen Abrundungskugeln können durch NH_3 in Vibrionen verwandelt werden, nur solche anhangslose Kugeln werden durch die Säure wiederum erzeugt. Die Kugeln mit ein oder zwei Beinchen, d. h. die echten Plasmoptysekugeln werden durch NH_3 nicht verändert und unterscheiden sich dadurch sofort von den Abrundungskugeln". „In einem Versuch wurden, mit Vibrionen beginnend, innerhalb einer Stunde dieselben Individuen dreimal zu Kugeln verwandelt und dreimal zu Vibrionen regeneriert, letzteres immer durch NH_3 . . ."

Da es mir trotz zahlreicher Versuche mit den verschiedenen Kulturen in verschiedenen Entwicklungsstadien und bei Anwendung nicht nur derselben Konzentrationen von Säure und Ammoniak, wie Professor Alfred Fischer angibt, sondern auch noch weniger und mehr konzentrierter Lösungen kein einziges Mal gelungen ist, die Umwandlung der einen Gestalt in die andere zustande zu bringen, da ich ferner in dieser Hinsicht keinen Unterschied im Verhalten der Organismen von Heuinfus und Zuckerbouillonkultur gefunden habe, so muß ich den Eindruck, welchen Professor Alfred Fischer nach der „$2^1/_2$ Minuten" dauernden Wirkung von Ammoniak bekommen hat, auf eine optische Täuschung zurückführen. Die von Professor Alfred Fischer bezeichneten „echten Plasmoptysekugeln", die in der Tat sich nicht mehr abrunden können, weil sie schon rund sind und deshalb auch von NH_3 nicht verändert werden, sind eben die echtesten Abrundungskugeln, die — wie ich später noch deutlicher zeigen werde — mit der Plasmoptyse nichts zu tun haben. Ihre „ein oder zwei Beinchen" sind nichts anderes, als die über die Kugeloberfläche herausragenden Körnchen, deren Entstehung auch klar gemacht werden soll.

Da die beiden Vorgänge — Abrundung und Plasmoptyse — wahrscheinlich, wie gesagt, in der flüssigen Kultur nebeneinander verlaufen, so entsteht die Aufgabe, sie zu „trennen", um jeden für sich allein studieren zu können.

III. Abrundung und Plasmoptyse.

Es ist klar, daß die wichtigste Bedingung für die anzustellenden Experimente und Beobachtungen ein Material von möglichst gleichförmiger Gestalt war. Es kam darauf an, die im Hängetropfen sich abspielenden Vorgänge nicht an den einzelnen Individuen —

was bei der langen Beobachtungszeit leicht zu Verwechslungen führen kann — sondern an ihrer Gesamtheit verfolgen zu können. Ein solches Material liefert eine bei 32° während 20 Stunden vorgezüchtete Agarstrichkultur, die später bei Zimmertemperatur gehalten wird. Bei längerer Wirkung der Bruttemperatur tritt bald eine Degeneration ein, welche sich in der unregelmäßigen Form der Vibrionen und ihrer verschiedenen Größe mit ausgesprochener Neigung zur Verkleinerung und Verkümmerung äußert. Es treten auch die rundlichen Gestalten bei der warmen Züchtung viel früher auf, was schon bei den flüssigen Kulturen auffällt und hier ganz deutlich zum Vorschein kommt. Wird aber die Kultur rechtzeitig der Wärmewirkung entzogen, so weist sie auf der gleichmäßig bewachsenen Oberfläche fast nur die normalen gekrümmten Gestalten auf. Will man möglichst lange die Kultur in dem gewünschten Zustande behalten, so ist darauf zu achten, daß die Bakterienwuchsfläche nicht durch das Kondenswasser bespült wird; in diesem, wie überhaupt in jeder flüssigen Kultur, entstehen nämlich sehr bald die runden Gestalten, zuerst bewegliche, dann unbewegliche und bilden einen weißen Bodensatz. Dieser Unterschied im Aussehen der Gestalten von *Vibrio proteus* in demselben Agarröhrchen läßt vermuten, daß es vielleicht der Mangel an Sauerstoff, ganz besonders aber der durch die flüssige Umgebung erleichterte Diffusionsaustausch zwischen der Bakterienzelle und ihrem sich erschöpfenden Nährmedium ist, welcher die Gestaltsveränderung in erster Linie verursacht. In der Tat, das Begehren nach Sauerstoff äußert sich auch in den flüssigen Kulturen durch die Kahmhautbildung im gewissen Entwicklungsstadium und es kommt auch im Hängetropfen zum Vorschein. Den Einfluß des Sauerstoffs auf die Formveränderungen von *Vibrio proteus* habe ich nicht untersucht und mich nur auf die zweite Frage, auf die Einwirkung des Nährstoffgehaltes der flüssigen Umgebung beschränkt.

Es wurde zuerst das Verhalten der Vibrionen in Lösungen von Kochsalz, Soda, Rohrzucker, Harnstoff und Glyzerin untersucht. Zu diesem Zwecke wurde eine Aufschwemmung von etwas Kulturmaterial in einigen Tropfen Leitungswasser gemacht und davon eine kleine Öse (etwa 1 mm im Durchmesser) in den Hängetropfen, welcher aus der untersuchten Lösung angelegt wurde, übergetragen. So rasch wie möglich begann die Beobachtung. Es gelangen zur Untersuchung folgende Kochsalzlösungen: 5, 1, 0,5 und 0.1 Proz. Die Wirkung der 5 proz. Lösung war zu stark: die Bakterien klebten zu Haufen und blieben unbeweglich an einer Stelle. Das Verhalten in

1 und 0,5 proz. NaCl-Lösung war in der Hauptsache dasselbe: es trat sofort eine allgemeine Plasmolyse bei den Bakterien ein (Taf. VI Fig. 6); sie blieben meist unbeweglich an der Stelle, viele am Deckgläschen klebend; hier und da sah man die plasmolysierten Individuen herumschwimmen, aber schon nach 2 Stunden trat fast vollständige Ruhe ein. Nach 5 Stunden konnte man ein teilweises Zurücktreten der Plasmolyse wahrnehmen; ruhig blieben die in ihren Umrissen unveränderten Stäbchen liegen; man konnte jetzt in ihrem Innern Körnchen hervortreten sehen, gewöhnlich nur an den Enden, seltener auch in der Mitte. Dieser Zustand blieb unverändert auch nach 8 Stunden. In einem Fall, wo zur Untersuchung die mehr abgerundeten Gestalten gelangen, unter denen auch Kugeln sich befanden, sah man, wie beim Eintreten der Plasmolyse der Inhalt der Kugeln und der ovalen Gestalten sich an der Peripherie ungleichförmig ansammelte und in der Mitte eine Vakuole entstand, welche rings von einem Plasmaschlauch umgeben war (Taf. VI Fig. 7).[1]

In der 0,1 proz. NaCl-Lösung trat keine Plasmolyse mehr ein. Die Stäbchen wurden nur in ihren Bewegungen anscheinlich gehemmt und klebten auch in großer Anzahl am Deckgläschen.

Ganz merkwürdige Gestalten von *Vibrio proteus* wurden in stark mit Na_2CO_3 alkalisch gemachten Lösungen von Zuckerbouillon[2]) beobachtet. Überhaupt der Organismus scheint ganz besonders für alkalisches (aber nicht NH_3-haltiges) Kulturmedium prädisponiert zu sein. Schon beim direkten Übertragen einer Spur des Kulturmaterials aus der Agarkultur in den Hängetropfen von 1 proz. Na_2CO_3-Lösung bemerkt man, wie die Zellen nach einer kurzen Anpassungszeit die vollkommenste *Vibrio*gestalt annehmen. Schlank, an den Enden zugespitzt, lassen sie die morphologischen Charakteristika der *Vibrio*form besonders deutlich hervortreten (Taf. VI Fig. 8). Man bemerkt auch, daß die Entwicklung in einer stärker alkalisch gemachten Zuckerbouillonkultur rascher und kräftiger erfolgt als ohne

[1]) Diese Art der Plasmolyse deutet allerdings darauf hin, daß der Protoplast bei *Vibrio proteus* vielleicht nicht ganz lose von seiner Hülle umgeben ist, wie etwa in einer *Spirogyra*zelle, sondern daß an gewissen Stellen ein mehr inniger Zusammenhang zwischen dem plasmatischen Inhalte und seiner Membran besteht. Auch die Plasmolysegebilde der normalen Vibrionen machen den Eindruck, daß an den Enden die Plasmamasse nicht bloß an die Membran anliegt, sondern vielleicht mit ihr verwachsen ist, denn es gelingt nie, ein Abheben der Membran vom Zellinhalte an dieser Stelle zu sehen.

[2]) Überall, wo von Zuckerbouillon die Rede ist, soll schwach alkalische Fleischwasserpeptonlösung ohne Salz, aber mit 1 Proz. Rohrzuckerzusatz, gemeint werden.

Na_2CO_3-Zusatz. Es wurden z. B. zwei Zuckerbouillonkulturen angelegt, eine mit Zusatz von 0,5 ccm einer 10proz. Na_2CO_3-Lösung, eine zweite mit 1 ccm derselben Lösung. Sie wurden ungefähr mit der gleichen Menge Aussaatmaterial geimpft und 16 Stunden bei 32° gehalten. Beide waren am folgenden Morgen ganz milchig getrübt und die 1 proz. Lösung deutlich stärker, als die 0,5 proz.; die erste zeigte auch schon einen großen Bodensatz. Die mikroskopische Untersuchung erwies sehr viele winzige Kügelchen, unter denen man größere eigentümlich birnenförmig gestaltete Zellen bemerken konnte (Taf. VI Fig. 9).

Gleichzeitig mit den Probierröhrchen wurde eine Aussaat desselben Impfmaterials in Uhrgläschen mit denselben Nährlösungen vorgenommen und über Nacht in der feuchten Kammer bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Hier waren keine Kugelgestalten zu sehen. Man vernahm anstatt dessen unter den normal gestalteten Vibrionen ziemlich viele merkwürdig schief trompeten- oder hornartig geformte Individuen (Taf. VI Fig. 10); manche sahen unsymmetrisch halbkugelförmig, zuweilen mit einer Aufblähung an der Kreisfläche aus. Sie waren alle beweglich; einige besaßen in der Mitte eine Vakuole. Das breite Ende erschien bei geeigneter Stellung des Organismus kreisrund. Viele von den Zellen waren bedeutend größer als die in Mehrzahl befindlichen Vibrionen, es gab aber auch solche, die dieselben kaum in ihrer Größe übertrafen. Nach ihrer Gestalt erinnerten einige von ihnen, besonders die größeren, wie z. B. *a* und *b*, die an dem breiten Ende auch eine Art Kragen besaßen, etwa an eine kleine *Vorticella*. In einem anderen Falle, wo die Untersuchung der Uhrgläschen etwas später erfolgte, besaßen diese Riesenvibrionen einen etwas veränderten Bau: das breite Ende war abgerundet und fast ausnahmslos mit einer Vakuole, ungefähr in der Mitte, ausgestattet; zuweilen war dieselbe endständig (Taf. VI Fig. 11).

Eine Abrundung am breiten Ende zeigten die trompetenförmigen Zellen beim Übertragen in die gewöhnliche Zuckerbouillonlösung, wobei die Vakuole meist verschwand. Umgekehrt, beim Übertragen in eine 1 proz. Na_2CO_3-Lösung konnte man das Entstehen einer zweiten Vakuole an dem schmalen Zellenende sehen, welches dadurch breiter wurde (Taf. VI Fig. 12).

Der Inhalt der Uhrgläschen wurde noch einmal am dritten Tage nach der Aussaat revidiert. Die reichlich vermehrten normalen Vibrionen waren sämtlich gut beweglich. Ebenso verhielten sich auch die kleineren birnenförmigen Zellen. Die großen dagegen sah man meistens ruhig liegen, fast jede an ihrem schmalen Ende oder

seltener rings herum dicht mit den Vibrionen besetzt. Weiter wurde die Entwicklungsgeschichte und die Formveränderungen von *Vibrio proteus* in den alkalischen Nährmedien nicht untersucht.

Beim Abbrechen der Versuche war die Reaktion des Uhrgläscheninhaltes noch stark alkalisch.

Das Verhalten der Vibrionen in einer 1—10 proz. Rohrzuckerlösung bot wenig Charakteristisches. Sie blieben lange Zeit — bis über 3 Stunden — beweglich und behielten meist auch ihre normale Gestalt bei. Hier und da konnte man vielleicht eine Aufblähung bemerken; ganz vereinzelt trat eine Plasmoptysegestalt auf. Nach 5 Stunden lag die Mehrzahl ruhig, gleichmäßig im Tropfen verteilt — ein Bild, das bei der Revision nach Verlauf von noch 3 Stunden unverändert geblieben war. Eine 20 proz. Zuckerlösung, in der sich der Organismus noch ganz gut entwickelt, wirkte sofort lähmend auf die Bewegung der aus Wasser übertragenen Individuen ohne jeglichen Einfluß auf ihre Gestalt.

Ebenso verhielt sich eine 3—0,5 proz. Harnstofflösung: Die Organismen blieben nach dem Eintragen sofort an Ort und Stelle unbeweglich, viele in einer vertikalen Stellung zitternd. Nach einiger Zeit erholten sie sich und man sah sie am Rande sich ansammeln, wobei die dem Spalt zugekehrte Seite deutlich bevorzugt war. Auch hier sah man nach einiger Zeit im Innern der etwas aufgeblähten Stäbchen Körnchen hervortreten.

Schließlich war auch das Verhalten in 1 proz. Glyzerinlösung demjenigen in der Harnstofflösung ganz gleich. Hier sah man ebenso die Organismen sofort nach dem Übertragen in der Mitte des Tropfens schweben. Die Wirkung schien hier noch schädlicher als bei Harnstofflösung zu sein, denn die Organismen hatten sogar nicht mehr Kraft, an die geeignete Atmungsstelle im Tropfen zu gelangen, und sanken meistens in die Tiefe, so daß sie überhaupt schwer zu finden waren.

Es braucht nicht hervorgehoben zu werden, wie wenig die geschilderten Versuche zur Lösung der Plasmoptysefrage beibringen; sie bringen eigentlich nichts. Und doch ist mir eins bei ihrer Ausführung aufgefallen — das war das Verhalten der Vibrionen im Wasser selbst. Ich bemerkte, daß sie beim längeren Verbleiben in dem Wassertropfen im Uhrgläschen eine ausgesprochene Neigung zur Abrundung zeigten. Ich bewahrte daher die Aufschwemmungsflüssigkeit in einer feuchten Kammer längere Zeit und nun überzeugte ich mich, daß schon nach Verlauf von 24 Stunden eine ganz genaue und allgemeine Abrundung eingetreten war. Das Bild (Taf. VI

Fig. 13) gibt einen Teil des Hängetropfenrandes mit der Reihe von nebeneinander liegenden Kügelchen wieder, deren einige auch die oft sichtbaren Körnchen aufweisen. Es muß ausdrücklich bemerkt werden, daß die Organismen bei ihrer Aufschwemmung nur Vibrionengestalten zeigten und daß außer den Kügelchen keine Gestalten mehr in dem Wassertropfen im Uhrgläschen zu finden waren, weder allein, noch mit den Kügelchen verbunden. Von Häuten, die sich im Wasser allerdings nicht aufgelöst hätten, war absolut nichts zu sehen.

Es ist mir auch gelungen, den Vorgang der Abrundung direkt zu beobachten unter Zuhilfenahme der NH_3-Wirkung auf die im Wasser einige Stunden liegengebliebenen Vibrionen.

Es wurde mit der kleinen Öse eine Spur von dem Aufschwemmungsmaterial in einen Hängetropfen aus destilliertem Wasser übergetragen. a_1 um b_1 (Taf. VI Fig. 14) stellen zwei Individuen dar, welche ich im Auge hatte, als der Spalt zwischen dem Deck- und Objektgläschen mit 0,2 proz. NH_3 geschlossen war. Nach 10 Minuten hat sich b_1 etwas aufgebläht (b_2), während a sich träge verhielt. Es wurde die 0,2 proz. NH_3-Lösung durch 0,5 proz. ersetzt und es dauerte nicht lange, als a_1 ruckweise zu a_2 wurde, und nach Verlauf von noch 15 Minuten kamen die einwandsfreien Abrundungsgestalten a_3 und b_3 zum Vorschein. Die Bilder geben zugleich Aufschluß darüber, auf welche Weise die über die Kugeloberfläche etwas herausragenden Körnchen, die berühmten „Beinchen" entstehen.

Im Hängetropfen war in dieser Zeit die Abrundung ziemlich allgemein eingetreten. Der Beweis für die Abrundung von Vibrionen ist somit gebracht: sie tritt ein und zwar unter der Wirkung des absoluten Mangels von Nährstoffen. Höhere Temperatur, flüssige Umgebung und Nährstoffmangel — das sind die wichtigsten Momente, welche bei der Abrundung der Zellen von *Vibrio proteus* mitspielen.

Nicht nur reines Wasser (die Abrundung tritt ebenso im destillierten wie im Leitungswasser ein), sondern auch schwache Lösungen solcher Stoffe, die nicht sofort tötend auf den *Vibrio* wirken und ihn nur unvollständig ernähren, wie z. B. eine 1 proz. Glyzerin- oder 1 proz. Rohrzuckerlösung führen zu einer Abrundung der immer schwächer werdenden Organismen. Es lassen sich auch diese Flüssigkeiten in eine Reihe nach ihrem Ernährungswert ordnen, wobei der *Vibrio* um so länger seine normale Gestalt behält, je besser die entsprechende Lösung seinen Nährbedürfnissen entpricht. Im Hängetropfen läßt sich diese Wirkung nicht gut verfolgen, wohl aber, wenn man sich gleichzeitig Aufschwemmungen von demselben Agarmaterial in den

genannten Lösungen in Uhrgläschen darstellt und diese längere Zeit in einer feuchten Kammer aufbewahrt. Fig. 15 (Taf. VI) stellt dar den Rand des Hängetropfens vor der Aufschwemmung in 1 proz. Glyzerinlösung, welche gleichzeitig mit der obenerwähnten Wasseraufschwemmung angelegt und untersucht wurde. Man sieht hier neben den vollständig abgerundeten Kugeln und ziemlich unverändert gebliebenen Stäbchen ovale Übergangsformen zwischen beiden. Die Zahl der letzten war in der Zuckeraufschwemmung noch größer mit gleichzeitiger Abnahme der Kugeln.

In allen diesen Versuchen war von der Plasmoptyse nichts zu sehen.

Es lag aber nahe, von den pessimalen Lebensbedingungen, wie sie ein Hängetropfen aus destilliertem Wasser darbietet, zu den optimalen — einer alkalischen Fleischwasserpeptonlösung, oder noch besser einer solchen mit etwas Zuckerzusatz überzugehen und das Verhalten der Organismen in den ihnen zusagenden Nährlösungen zu beobachten. Es wurde wieder eine Aufschwemmung von dem Agarmaterial, das in gewünschtem Entwicklungsstadium sich befand, in etwas Wasser gemacht und von hier in die entsprechenden Hängetropfen mit der kleinen Öse eine Spur übergetragen. Die Organismen, welche im Wasser ihre Beweglichkeit bald einbüßen und mehr Stäbchen- als Vibrionenform aufweisen, nehmen unter der Wirkung des guten Nährmediums ihre normale Vibrionenform bald an. Schlank und deutlich gekrümmt erscheinen sie am Rande, wo sie sich oft zu Reihen senkrecht zur Krümmungslinie des Tropfenrandes ordnen und entweder an einer Stelle sich bewegen, oder in der ganzen Schar dem Tropfenrande entlang herumschwimmen. Viele treiben lebhaft umher, einzeln oder zu kleinen radialen Haufen — offenbar durch die gegenseitige Geißelverflechtung — vereinigt. Lange dauert die rege Bewegung im Tropfen. Nach 2, selbst nach 3 Stunden wird man fast nur diese Gestalten, die sich inzwischen reichlich vermehrt haben, sehen. Aber hier und da bemerkt man im Gedränge der Vibrionen und Vibrionenkettchen Kügelchen, die in ihrer Beweglichkeit ihren normalgestalteten Gefährten gar nicht nachstehen; ins Freie gelangt, verschwinden sie ebenso rasch wie jene aus dem Gesichtsfelde. Wenn es aber gelingt, die eine oder die andere genauer anzusehen, so bemerkt man, daß jede von ihnen einen Anhängsel mit sich schleppt — eben das herabhängende „Häutchen“ des einzelnen Vibrions oder eines noch nicht geteilten Pärchens.

Wird die Beobachtung in der rechten Zeit nach dem Anlegen

des Hängetropfens vorgenommen, so gelingt es zuweilen, die Plasmoptyse an einer großen Individuenzahl zu beobachten. In meinen Versuchen begann sie gewöhnlich nach Verlauf von $2^1/_2$—3 Stunden und war etwa 2 Stunden später zum größten Teil eingetreten. Nach dieser Zeit lagen allerdings die plasmoptierten Vibrionen schon meistens ruhig. Die Mehrzahl plasmoptiert in der Bewegung — bei diesen ist es unmöglich, die nacheinander folgenden Stadien des Vorganges zu notieren. Mit Leichtigkeit kann man es aber bei den ruhig an einer Stelle verbleibenden vornehmen.

Die Plasmoptyse spielt sich ganz so, wie schon oben beschrieben wurde: ein außerhalb des Bakterieuleibes erschienenes Knöpfchen (*a*) (Taf. VI Fig. 16) schwillt langsam zu einem winzigen Kügelchen (*b*), welches weiter sich zu einer Kugel (*c*), deren Durchmesser um das vielfache die Stäbchendicke übertrifft, ausbildet. Zwischen *a* und *b* verflossen 10 Minuten, *c* entstand noch nach Verlauf von 15 Minuten. Der ganze Vorgang nahm somit ca. $^1/_2$ Stunde in Anspruch. Das Bild im Hängetropfen nach dem Eintritt der Plasmoptyse ist überaus charakteristisch: man sieht die geometrisch runden kleineren und größeren Kügelchen mit ihren meist etwas gekrümmten, zuweilen ganz dünnen Anhängseln, zusammen mit den nicht plasmoptierten Individuen im dichten Gedränge längs des Tropfenrandes liegen; hier und da trifft sich ein längeres Stäbchen mit zwei Kügelchen je an einem Ende, sehr selten sind die Formen mit zwei kurzen Anhängseln an einer Kugel (Taf. VI Fig. 17).

Außer diesen Gestalten sieht man keine anderen, weder lose liegende Kugeln, noch ellipsoidale Aufblähungsformen.

Macht man sich aus dem plasmoptierten Material ein gefärbtes Präparat, so sieht man, daß die Kügelchen viel intensiver färbbar sind, als die an ihnen hängenden Häutchen.

Auf die geschilderte Weise erhielt ich die Plasmoptyse immer am deutlichsten, und zwar allgemein in einer Fleischwasserpeptonlösung mit 1 Proz. Zuckerzusatz besser, als ohne diesen.

Zu bemerken ist, daß der Hängetropfen nach dem Eintritt der Plasmoptyse eine ganz deutliche alkalische Reaktion besaß. — Kein einziges Mal konnte ich die Abtrennung des anhängenden Häutchens vom ausgepreßten Plasmatröpfchen bemerken.

Professor Alfred Fischer schreibt zwar [1]): „Von den Plasmoptysekugeln werden später bei anhaltenden Bewegungen die leeren Hautreste abgestreift", g e s e h e n aber hat Professor Alfred Fischer

[1]) Ber. d. Deutsch. bot. Ges. Bd. XXIV S. 58.

dieses „Abstreifen“ wohl nicht. Es war nötig, die in so großer Zahl in den flüssigen Kulturen erscheinenden Kugeln „mit ein oder zwei Beinchen“ irgendwie mit den viel selteneren wahren Plasmoptysegestalten zu verbinden, und so ist die Geschichte über das „Abstreifen leerer Hautreste“ entstanden. Ja, Professor Alfred Fischer bringt sogar einen Beweis für die Richtigkeit seiner Vermutungen, welcher lautet: „Wie der leere Wurstdarm länger ist als die Wurst, sind auch die leeren Vibrionenhäute länger als der Vibrio“. „Man findet — nach Professor Alfred Fischer — in Kulturen gewissen Alters (20 bis 24 Stunden) oft größere Mengen leerer Hautsäcke.“ Ich habe die zuletzt beschriebenen Plasmoptysegestalten, die noch lange (1 bis 2 Stunden) gut beweglich waren, bis zu ihrer endgültigen Sistierung unaufhörlich beobachtet und ohne eine einzige Ausnahme die Kügelchen mit ihren Häutchen in stetiger Verbindung gesehen. Dann habe ich öfters nach den „Hautsäcken“ in Kultnren verschiedenen Alters gesucht und bin überzengt, daß das, was Professor Alfred Fischer für entleerte *Vibrio*häute nahm, nichts anderes, als degenerierte, verunstaltete Vibrionen waren. Bei Beschreibung der Entwicklung von *Vibrio proteus* in Heuinfuskulturen habe ich schon bemerkt, daß man in älteren Kultnren hauptsächlich zwei Gestalten, ruhig liegende Kügelchen nnd dünne schwach gewnndene Vibrionen, die fast Stäbchenform besitzen, findet. Durch die letzten wurde wahrscheinlich Professor Alfred Fischer irregeführt.

Anf Grund aller dargelegten Beobachtungen bin ich wohl berechtigt, die Ansicht von Professor Alfred Fischer, daß die in einer flüssigen Knltur von *Vibrio proteus* auftretenden anhangslosen kngeligen Gestalten mit den oben beschriebenen Plasmoptysegebilden in irgend welchem genetischen Verhältnis ständen, als unrichtig aufznfassen. Professor Alfred Fischer hat zwei nebeneinander verlaufende und voneinander unabhängige Vorgänge in einen größeren gemeinschaftlichen Cyklus verbunden, welcher de facto nicht existiert.

Es bleibt noch übrig, die Versnche über die Wiederbelebung des durch Plasmoptyse, resp. Abrundung deformierten Materials zu erwähnen. Die dnrch längeres Liegen im Wasser abgerundeten Gestalten zogen beim Übertragen in einen Hängetropfen aus Zncker-bouillon ihren Inhalt mondförmig an eine Seite der Kngel zusammen (Taf. VI Fig. 18), bekamen ein mehr gekörneltes Aussehen, zeigten aber sonst keine Lebenserscheinungen.

Die Plasmoptysekngeln, soweit sie schon zur Rnhe gekommen waren, zeigten beim Übertragen in eine frische Nährlösnng auch

keine Lebenserscheinungen mehr, die beweglichen konnte man noch einige Zeit umherschwimmen sehen, wobei die Anhängsel immer kleiner und dünner wurden, zur „Abstreifnng“ aber nie gelangten (Taf. VI Fig. 19); schließlich werden sie auch sistiert, um scheinbar definitiv vom Leben Abschied zu nehmen.

IV. Theoretisches.

Vergleicht man die Bedingungen, unter welchen die Plasmoptyse zustande kommt, mit denjenigen, welche zur Abrundung der Zellen von *Vibrio proteus* führen, so sieht man den diametralen Unterschied zwischen diesen beiden Erscheinungen. Die Abrundung in ihrer vollkommensten Art, wie sie in Wasser eintritt, ist das Zeichen einer Ohnmacht der durch Mangel von Endosmose von Nährstoffen und wahrscheinlich durch gesteigerte Exosmose erschöpften Zelle. Das Auftreten der Körnchen im Bakterienleibe scheint damit im Zusammenhange zu stehen: es können sich anhänfende Niederschläge gewisser Stoffe sein, die in dem ausgelaugten Zellinhalte nicht mehr in Lösung erhalten werden können. Die Membran verliert ihre Elastizität, sie wird auch gewaltig durch den gesteigerten osmotischen Druck im Inneren der Zelle aufgetrieben, schließlich ist sie nicht mehr imstande, Widerstand zu leisten und wird vollständig deformiert; sie wird zu einer gewöhnlichen Blase. In der Form einer Kugel kann der *Vibrio* eventuell noch einige Zeit am Leben bleiben, wenn diese Umgestaltung nicht so brutal, wie das im Wasser der Fall ist, sondern allmählich in einer langsam sich erschöpfenden Nährlösnng zutage tritt; er ist aber schon dem Tode, sozusagen, prädestiniert: eine in Teilnng begriffene vollständig abgerundete Kugel habe ich nicht gesehen. — Anders die Plasmoptyse. Sie tritt nur bei Individuen ein, die eben in den optimalen Lebensbedingungen sich befanden. In die mit voller Energie sich abspielenden Lebenserscheinnngen der Zellen greift irgend ein störender Umstand ein. Was es ist — darüber kann man einstweilen nur Vermntnngen aussprechen: es kann der plötzliche Mangel eines wichtigen Nährstoffs, wie z. B. des Zuckers oder einer anderen Verbindung sein, ebenso gut kann es anch die Anhäntung eines oder mehrerer aus der Bakterie ausgeschiedenen oder in ihr sich ansammelnden Umsetzungsstoffe sein; die Säure an und für sich ist es allerdings nicht, denn die Plasmoptyse findet anch in einer alkalischen Lösung statt. Nun tritt der Inhalt der Zelle (wahrscheinlich nur teilweise) nach außen und die rege Beweglichkeit des plasmoptierten Individuums bezengt

am besten, daß das Zustandekommen der Plasmoptyse ein momentaner Sieg des Organismus im Kampfe ums Dasein ist. Wie mit neuen Kräften ausgestattet sucht sich die Zelle eifrig zusagende Existenzbedingungen aus. Sie ist aber durch die schwere Operation so geschwächt und auch verunstaltet, daß selbst die günstigsten Lebensbedingungen, die ihren nichtoperierten Genossen alle Lebensfreuden von neuem darbieten, sie nicht mehr zu retten imstande sind: sie ist unteilbar und verschwindet ohne Nachkommenschaft aus ihrer Hängetropfenwelt. Eine Frage drängt sich schon lange auf: Wie kommt es, daß nicht der ganze Inhalt eines Probierröhrchens, daß nicht alle Individuen gleichzeitig eine bestimmte Entwicklungsform annehmen, sondern daß man in einem gewissen Zeitpunkt die verschiedensten Gestalten miteinander vermischt findet?

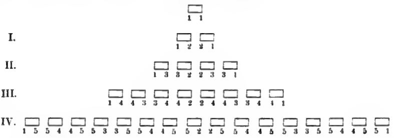
Die Ursachen dieser Erscheinung sind zweierlei Art: sie liegen erstens außerhalb der Organismen, in ihrem Kulturmedium, und zweitens — in den Organismen selbst, in dem jeweiligen Zustand der Zelle, welcher durch die Summe aller in ihrem bisherigen Leben mitwirkenden Lebensbedingungen bestimmt ist und seinerseits die Lebenserscheinungen des nächsten Zeitmoments bedingt.

Eine Flüssigkeit, soweit sie keine Trübung und keinen Niederschlag besitzt, stellt anfangs ein vollständig homogenes Medium dar. Schon aber beim Einstellen des Röhrchens in den Brutschrank wirkt die Wärmeausbreitung differenzierend auf den Inhalt, in welchem eine bewegliche Bakterienart sich nach allen Richtungen hin gleichförmig verteilt hat. Die Temperaturunterschiede gleichen sich aber in dem kleinen Probierröhrchen bald aus; die beweglichen Organismen tragen dazu nicht unbedeutend bei. Es vermehren sich nun die an das neue Medium angepaßten Organismen lebhaft und es wird allmählich der Vorrat an den verschiedenen Nährsubstanzen der Lösung verbraucht. Sehr deutlich tritt bei *Vibrio proteus* in einem gewissen Entwicklungsstadium der Mangel an Sauerstoff auf: die Organismen sammeln sich an der Oberfläche zu einer dünnen Kahmhaut und sperren den Zutritt der „Lebensluft“ zu den anderen ab. Bald entsteht auch ein Bodensatz aus den heruntersinkenden, meist abgerundeten, absterbenden Zellen, und so ist das Nährmedium ganz ungleichartig geworden.

Etwas näher sei das zweite Moment, der Entwicklungsgang der Organismen selbst, die „inneren“ Ursachen ihrer Verschiedenheit in einem gegebenen Zeitmoment besprochen.

Eine durch Zweiteilung sich vermehrende Zelle erzeugt, wie leicht zu berechnen, nach n-Teilungen 2^n-Zellen.

Ist diese ganze Nachkommenschaft untereinander gleich, oder lassen sich „ältere und jüngere“ Individuen unterscheiden? — eine Frage, die bis jetzt in der Bakteriologie stillschweigend umgangen wurde, gleichwohl sie sich rein mathematisch beantworten läßt. Wir wollen eine Zelle in ihrer Teilung verfolgen.



Nach Eintritt der IV. Teilung können wir folgende Zellen unterscheiden:

a) 8 Zellen 4,5
b) 4 „ 3,5
c) 2 „ 2,5
d) 2 „ 1,5

Ihre Summe stellt die Gesamtheit der momentan vorhandenen Zellen dar, somit

$$2^4 = 2 + 2 + 4 + 8 = 2 + 2^1 + 2^2 + 2^3.$$

Nach Eintritt der folgenden Teilung wird die Gesamtzahl

$$2^5 = 2 + 2^1 + 2^2 + 2^3 + 2^4 \text{ usw.}$$

Nach Eintritt der *n*-ten Teilung haben wir

$$2^n = 2 + 2^1 + 2^2 + \dots . 2^{n-1}\,[1]$$

Die in der Reihe IV befindlichen 16 Zellen — die Nachkommenschaft der Zelle 1,1 — können nicht als vollständig gleichartig be-

---

[1]) Algebraisch dargestellt bekommt der Ausdruck die Form:

$$a^n = a + a^1 + a^2 + \dots a^{n-1}$$

Diese Formel ist richtig nur für den Spezialfall, wenn $a = 2$ ist. Für beliebige Werte von a gilt die allgemeine Formel:

$$a^n = a + (a-1)\,a + (a-1)\,a^2 + (a-1)\,a^3 + \dots . (a-1)\,a^{n-1}.$$

Ist $a = 2$, so geht diese Formel in die obige über. Offenbar stellt die letzte allgemeine Formel den Zustand nach der *n*-ten Teilung von *a*-Zellen, welche sämtlich gleichmäßig sich geteilt haben.

trachtet werden. Obwohl jede von ihnen aus der Reihe III durch Einlegung einer neuen Wand 5 entstanden ist, so können wir die zwei Zellen 1,5, deren Ende 1 noch an die Ururgroßmutter 1,1 erinnert, schwer mit den jüngst entstandenen 4,5 auf die gleiche Stufe stellen. Wenn man den Unterschied, welcher durch die verschieden alten Abgrenzungswände der Zellen verursacht wird, anerkennt, dann bekommt der allgemeine Ausdruck

$$a^n = a + (a-1)\,a + (a-1)\,a^2 + \ldots .\, (a-1)\,a^{n-1}$$

eine tiefere Bedeutung dadurch, daß er die Gesamtheit der aus a-Zellen nach n-Teilungen entstandenen Individuen als Summe der Organismen „verschiedenen Alters" [1]) darstellt.

Ob diese „Altersunterschiede" auch nicht in den Formveränderungen von *Vibrio proteus*, wie Plasmoptyse, trompetenartige Erweiterung eines Endes usw., mit eine Rolle spielen, das läßt sich natürlich nicht direkt beweisen, aber wohl vermuten.

Vibrio aus der Jauche.

In der Erscheinung der Plasmoptyse steht *Vibrio proteus* gar nicht vereinzelt da. Gelegentlich konnte ich diesen Vorgang an einem in der Jauche sich entwickelnden *Vibrio* aufs deutlichste beobachten. Der Organismus konnte leider weder identifiziert, noch isoliert werden, da er auf den Gelatine-, Jauchengelatine- und Jauchenagarplatten nicht zur Entwicklung kam und auch in seinem ursprünglichen Entwicklungsort bald verging. Merkwürdig rasch vermehrte er sich in einer Jauchenprobe, die schon einige Tage im Laboratoriumszimmer gestanden hat. Nach dem plötzlichen Erscheinen verging er aber auch ebenso geschwind. Am dritten Tage, nachdem ich ihn bemerkt habe, war er schon so geschwächt, daß das Experimentieren mit ihm zu keinen Resultaten mehr führte. So lange ich ihn in der Hand hatte, konnte ich feststellen, daß in diesem Falle die Plasmoptyse auf rein osmotischem Wege zustande kam: beim Übertragen einer Spur von der Jauchenoberfläche (der Organismus war deutlich aërophil) in einen Wasserhängetropfen trat die Plasmoptyse sofort und allgemein ein. Die Vibriokettchen (der *Vibrio* kam nur

[1]) Daß diese Auseinandersetzung nur eine grobe Schematisierung des Zellteilungsvorganges bei den Bakterien ist, ist ja einleuchtend. Der Bakterienleib, wie jede lebendige Zelle, bleibt nicht einen Moment unverändert; wenn ich daher von einem „älteren Ende" der Bakterienzelle spreche, so ist es nichts anderes, als bloß ein Hilfsbegriff zur Schilderung der Möglichkeit innerer Verschiedenheiten zwischen den Organismen einer Kultur.

in Ketten vor) schieden entweder an den Enden, oder — viel öfter — in der Mitte seitlich Kügelchen aus, die sie dann in ihren regen Bewegungen mitschleppten (Taf. VI Fig. 20). Das Kügelchen wurde immer in der Einzahl ausgeschieden, so daß man es als eine Ausscheidung des ganzen Kettchens ansehen muß. Wurde der Organismus von der Jauche in eine $^3/_4$ proz. NaCl-Lösung übergetragen, so war keine Spur der Plasmoptyse zu sehen; er behielt dabei auch seine volle Beweglichkeit bei.

Es wurden Versuche angestellt, um den Verdünnungsgrad der Jauche zu bestimmen, bei welchem die Plasmoptyse zustande kommt. Mit den mit 0,1 cm-Teilungen versehenen Pipetten wurde zuerst die Jauche und darauf destilliertes Wasser in Uhrgläschen zusammengebracht und nach dem Vermischen mikroskopisch geprüft. Das Ergebnis war, daß erst bei der Verdünnung von 1 (Jauche) zu 4 (H_2O) eine deutliche, fast allgemeine Plasmoptyse entstand. Bei der Verdünnung 1 : 1 fand sie gar nicht statt, bei 1 : 2 trat sie nur vereinzelt ein. Die Verdünnungen von 1 : 4 bis 1 : 7 führten sofort zur Plasmoptyse, beeinträchtigten aber die Beweglichkeit der plasmoptierten Zellen anfangs nicht; erst nach Verlauf von $^1/_2$—1 Stunde konnte man eine Ermüdung derselben wahrnehmen. Von der Verdünnung 1 : 8 an sah man immer mehr unbewegliche Zellen, und bei 1 : 10 war die Mehrzahl sofort unbeweglich. Die höheren Verdünnungen bis 1 : 40 brachten keine Änderung mehr in die Erscheinungen.

Stärkere Konzentrationen von NaCl wirkten auf den *Vibrio*, wie gewöhnlich, plasmolysierend ein.

Die Versuche mit der Wirkung der Essigsäure und NH_3-Dämpfe durch den Spalt führten zu keinen positiven Resultaten.

Die Reaktion der Jauche selbst war stark alkalisch.

Man konnte auch hier den Vorgang der Plasmoptyse unter dem Mikroskop unmittelbar verfolgen. Der Organismus war so groß, daß man ihn ganz gut mit einem Trockensystem (Leitz-Objektiv E) beobachten konnte. Es wurde nun eine Böttcher'sche feuchte Kammer angelegt und das Wasser in ihr über einer kleinen Flamme gelinde angewärmt, um es zu einer intensiveren Verdampfung zu bringen. Nach dem Auflegen des Deckgläschens mit dem Untersuchungsmaterial wurde die Beobachtung sofort vorgenommen. Es gelang nun zu sehen, wie in dem zerfließenden Jauchenhängetröpfchen an den Vibrionenketten winzige Kügelchen entstanden und rasch heranwuchsen.

Wie bemerkt, fing der *Vibrio* sehr rasch an in der Jauche zu

degenerieren: er wurde unbeweglich, erschien immer weniger zahlreich, plasmoptierte nicht mehr so regelmäßig, so daß die Versuche abgebrochen werden mußten.

Spirillum volutans.

Zu den plasmoptierenden Organismen gehört auch *Spirillum volutans*, nur erfolgt hier die Plasmoptyse auf andere Weise, als bei den Vibrionen.

Untersucht man eine ältere Agarkultur von diesem *Spirillum*, so bemerkt man viele kleine ovale, zuweilen fast kugelrunde, zum Teil bewegliche Formen, die in ihrem äußeren Aussehen gar nicht an die *Spirillum*-Gestalt, eher an eine Monadine erinnern. In der gewöhnlichen Fleischwasserpeptonlösung entwickelt sich *Spirillum volutans* in seiner normalen Gestalt. Dieselben Gestalten erscheinen auch auf der Agaroberfläche der nicht veralteten Strichkulturen. Überimpft man von einer solchen gut entwickelten frisch angelegten Kultur in ein Röhrchen, welches Fleischwasserpeptonlösung mit Zusatz von 1 ccm einer 1 proz. NH_3-Lösung enthält, so kann man nach etwa 16 Stunden Züchtung bei 32° die verschiedenen „Involutionsgestalten" vom genannten *Spirillum* beobachten: längliche unregelmäßig gekrümmte, spindelförmig verdickte mit Krümmungen, gerade stäbchenförmige, kleine ovale bis zu fast runden und noch kleinere bazillenförmige Zellen schwimmen im Tropfen umher (Taf. VI Fig. 21). Zuweilen hält die eine oder die andere auf, verbleibt einige Minuten an der Stelle, von Zeit zu Zeit aufzitternd, als ob sie sich anstrenge, sich frei zu machen, könne es aber nicht; auf einmal wird sie frei und schwimmt weiter fort. Betrachtet man eine solche angeheftete und aufzitternde Zelle genauer, so sieht man, daß sie in der Tat am Deckgläschen mit ihrem Ende festhaftet und zwar durch das von ihrem eigenen Leibe sich ausscheidende Protoplasma, welches körnige Fleckchen am Deckgläschen bildet. Zwei in Teilung begriffene Zellen scheiden ihren Inhalt an den freien Enden aus, eine freie Zelle scheidet ihn nur an einem Ende, wahrscheinlich dem älteren aus (Taf. VI Fig. 22).

Nach Verlauf von noch etwa 6 Stunden warmer Züchtung findet man die Zahl der größeren Gestalten bedeutend vermindert und sieht an ihrer Stelle viele dünne verkümmerte Formen auftreten. Einige von ihnen sind ganz „fadendünn" geworden bei Behaltung ihrer Länge; sie sehen wie entleert aus, ohne den bei Spirillen üblichen Körnerinhalt. Ebenso transparent sind die verkleinerten

stäbchenartigen Gestalten, während die ovalen und kugelförmigen einen körnigen Inhalt noch erkennen lassen. Die Plasmoptyse dauert fort: man kann an den einzelnen Organismen ganze Protoplasmafäden anhaften sehen; hier und da liegen solche Plasmastränge am Deckgläschen allein in Begleitung der körnigen Ausscheidungen (Taf. VI Fig. 23). Jetzt sind auch beiderseits plasmoptierende Individuen zu sehen.

Bei größerem NH_3-Gehalt wird die Beweglichkeit der Zellen schon sehr beeinträchtigt, es kommen auch keine großen Individuen mehr zur Entwicklung (z. B. bei Zusatz von 1 ccm einer 3proz. Lösung), so daß auch die Plasmaausscheidung nicht mehr so deutlich zutage tritt. Die Erscheinung der Plasmoptyse im Hängetropfen kann man etwas beschleunigen und verdeutlichen, wenn man die Beobachtung mit dem Spalt einsetzt und denselben z. B. mit 2 Proz. NH_3 verschließt.

Die Plasmoptyse tritt nicht nur in einer NH_3-haltigen, sondern auch in einer mit Essigsäure angesäuerten Lösung ein. Der Organismus entwickelt sich in dem sauren Nährmedium sehr spärlich, aber es gelingt auch hier sehr deutlich die Plasmaausscheidung zu beobachten. Nur sind in diesem Falle die Individuen viel gleichmäßiger gebaut; ich fand keine aufgeblähte Formen, nur die geraden oder etwas gekrümmten Stäbchen von gleichmäßiger Dicke.

Etwas stärkere Säurekonzentrationen wirken tödlich.

Vieles wäre hier noch zu ermitteln, so z. B. das Verhalten der Geißeln bei den plasmoptierenden Individuen, welche vor wie nach beweglich bleiben, die Regenerierung der wie „entleerte Hautsäcke“ aussehenden verkümmerten Organismen zu normalen Spirillen usw. usw.

Glaucoma colpidium.

Nachdem die verschiedene Wirkung gewisser chemischer Veränderungen im Nährsubstrat auf einige Repräsentanten derjenigen Organismen, welche in die Gruppe der Bakterien eingereiht werden, festgestellt war, wurde nach ähnlichen Erscheinungen in den anderen Gruppen der einfachsten Lebewesen gefahndet.

Zuerst kam das Infusor *Glaucoma colpidium* (Schew.) zur Untersuchung.

Die Aufgabe bestand in der unmittelbaren Beobachtung der Wirkung entsprechender Substanzen vom ersten Moment an, wo die Zelle mit ihnen in Berührung kam bis eventuell zum Tode derselben. Dementsprechend wurden als Agentien die verhältnismäßig leicht

verdampfenden Substanzen, wie Ammoniak, Trimetylamin, Anilin, Essigsäure, Alkohol, Formaldehyd, Äther, Chloroform, Phenol und Jod angewandt — alle in entsprechend verdünnten wässerigen Lösungen. Die Versuchsanordnung war die bekannte mit der Wirkung des Agens durch den Spalt. Was zunächst die Wirkung der basischen Stoffe, wie Ammoniak, Trimetylamin und Anilin anbelangt, so äußerte sie sich auf die gleiche Weise: die mehr oder weniger eiförmige Gestalt des Infusors blähte sich allmählich auf, was — besonders bei den kleineren jüngeren Individuen — oft fast bis zur Kugelform führte; an den größeren erschienen bald an der Oberfläche blasige Ausstülpungen, welche zuweilen eine völlige Deformation der Organismengestalt zur Folge hatten (Taf. VI Fig. 24). Wenn das entsprechende Agens nicht zu stark konzentriert war — 0,02 bis 0,04 proz. NH_3-Lösung, 0,01 bis 0,02 proz. $N(CH_3)_3$- und 0,2 bis 0,5 gesättigte Anilinlösung —, so ging die Wirkung ganz langsam vor sich: man konnte sehen, daß sie hauptsächlich in der Vergrößerung der Vakuole resp. in der Entstehung neuer Vakuolen an verschiedenen Körperstellen besteht.

Die deformierten Zellen waren anfangs sehr gut beweglich und ließen sich auch in der Regel zu ihrer früheren normalen Gestalt regenerieren, wenn man rechtzeitig die entsprechende Lösung im Spalt durch Wasser ersetzte und die Manipulation zur Ausziehung des Agens aus dem Hängetropfen einige Male wiederholte. Diese Belebungsweise hat sich erfolgreicher erwiesen, als das Neutralisieren des alkalischen Mittels, z. B. durch verdünnte Essigsäuredämpfe.

Die Vakuolen und die durch sie verursachten Ausstülpungen wurden allmählich eingezogen, die Zellen, wenn sie durch längere Wirkung des betreffenden Stoffes unbeweglich geworden waren, gewannen ihre normale Beweglichkeit wieder. Bei allzuweit fortgeschrittener Deformation gelang die Wiederbelebung nicht immer. In einigen Fällen, z. B. bei der Wiederbelebung der durch Wirkung der Anilindämpfe deformierten Organismen konnte man sehen, wie sich der gesunde Teil der Zelle von der blasigen Ausstülpung allmählich abgrenzte. Zuerst sah man an dieser Stelle das Protoplasma körniger werden, schließlich bildete sich eine neue Pelliculawand aus (Taf. VI Fig. 25).

Rascher erfolgte die Heilung der durch Alkoholwirkung (10 Proz.) angegriffenen Zellen und konnte daher genauer beobachtet werden. Die durch Alkohol verursachten Deformationen waren denjenigen, welche unter dem Einfluß der alkalischen Agentien entstanden, ähnlich, nur schien hier die Vakuolendilatation nicht so weit zu gehen.

a_1 und b_1 (Taf. VI Fig. 26) stellen die Formen von drei Zellen nach 10 Minuten Wirkung der Dämpfe einer 10 proz. Alkohollösung dar.

Die Individuen sind unbeweglich geworden und zeigten überhaupt keine Lebenserscheinungen mehr; ihre „Pulszahl"[1]) ist $= \infty$ geworden. Es wurde nun der Alkohol durch Wasser ersetzt. Schon nach Verlauf von 15 Minuten nach mehrmaliger Auswechselung des Wassers im Spalt konnte man bei den Zellen Bewegungsanstrengungen wahrnehmen. Man sah, wie die Pellicula bei der durchsichtigen blasigen Ausstülpung sich allmählich einzog, so daß die Verbindungsbrücke mit dem aufgeblähten Zellenteil immer kleiner war (a_2, b_2). Gleichzeitig konnte man bemerken, daß die Cytostomwimpern in Tätigkeit traten und die Vakuole zu pulsieren anfing. Das Pulsieren der Vakuole war zuerst unregelmäßig. In *a* z. B. habe ich bei der Belebung zwei pulsierende Vakuolen auftreten gesehen, eine größere von größerer und eine geringere von kleinerer Schlagdauer.[2]) Während einer Diastoleperiode der größeren schlug die kleinere fünfmal. Schließlich kamen beide in einer gemeinsamen Diastole in Berührung und verschmolzen zusammen; die Pulsierungsfrequenz ist — grob geschätzt — die der größeren geblieben. Ihre Pulszahl habe ich vor und nach der Verschmelzung nicht gezählt. a_2 und b_2 stellen den Zustand der Zellen in diesem Stadium dar. Nach Verlauf von noch 10 Minuten macht *a* durch eine drehende Bewegung den definitiven Versuch, sich von der Blase zu befreien, was ihr auch vollkommen gelingt und wir sehen das abgestreifte Bläschen neben der in einer veränderten Lage sich befindenden Zelle liegen (a_3), während die stärker angegriffene Zelle *b* weiter arbeitet, um auch ihrerseits den nicht mehr zu heilenden Teil abzustoßen: mit ihm wird auch ein Teil des körnigen Zellinhaltes entfernt (b_3). Jetzt erreichen die Zellen langsam ihre normale Gestalt und Beweglichkeit zurück. Nach einer halben Stunde sieht man sie schon Schwimmversuche anstellen — zuerst auf kleinere Entfernungen ruckweise, aber nach Verlauf von drei Stunden äußert sich das Leben in den normalgestalteten Zellen auf normale Weise wieder (Taf. VI Fig. 27). Die Wirkung geringer Konzentrationen von Essigsäure (0,05—0,1 Proz.) äußerte sich ebenfalls zuerst in einer Aufblähung der *Glaucoma*-zellen; eine Auftreibung der Vakuole wurde dabei nicht bemerkt. Während der unruhigen beschleunigten Bewegung im Anfange der

[1]) „Untersuchungen über die kontraktile Vakuole und die Wabenstruktur des Protoplasmas" von Albert Degen. Bot. Ztg. 1905 S. 163.

[2]) Vgl. die zitierte Arbeit S. 173.

Säurewirkung konnte man zuweilen Ausstoßung kleiner Blasen durch die Cytostomöffnung sehen. Allmählich erlischte die Wimperbewegung, die Zelle wurde sistiert und wenn die Säurewirkung nicht sofort aufgehoben wurde, blieb sie schon tot. Durch die fixierende Wirkung der Säure hob sich der Kern hervor, die gesträubten Wimpern wurden gut sichtbar und so verblieb die Zelle mit deutlichen Konturen, bis sie an einer gewissen Stelle platzte und der gänzlichen Zerstörung anheimfiel (Taf. VI Fig. 28).

Anders erfolgte die Tötung durch Wirkung größerer NH_3-Konzentration. Die betäubte Zelle bleibt an der Stelle und verliert auf einmal ihre innere Struktur, indem sie sich vollständig zu einer Kugel abrundet [1]) und innerlich zusammenfließt. In der Kugel kann man das Zittern der aus ihrer organischen Lagerung befreiten Körnchen sehen. Bald hält die geschwächte Wand der Blase den Druck von innen nicht mehr aus, sie platzt und ergießt sich in eine Anzahl kleiner Bläschen, die ihrerseits nacheinander wieder platzen und es bleibt nur ein Haufen Körner an der Stelle, wo sich die Zelle befand (Taf. VI Fig. 29). Nach einiger Zeit werden auch diese Überbleibsel durch die alkalische Flüssigkeit des Hängetropfens gelöst — und der Organismus ist „spurlos" verschwunden. Jod- und Formaldehydlösungen wirken so stark, daß die Zellen meist direkt zerstört werden, ohne ihre Gestalt vorher deutlich zu ändern. Die Vakuole und ihre Tätigkeit wurde bei diesen Versuchen außer Acht gelassen. Merkwürdig ist, daß die Wirkung sich nicht auf gleiche Weise bei allen Organismen äußert: die größeren älteren scheinen auf diese beiden Agentien empfindlicher zu sein, als die kleineren jüngeren. So z. B. nach 10 bis 15 Minuten Wirkung einer halbgesättigten wässerigen Jodlösung (entspricht ca. 0,015 proz. J) werden die großen Zellen meistens sistiert, während die kleineren unter Beibehaltung ihrer normalen Gestalten sehr lebhaft meist in den höheren Regionen des mittleren Teils des Tropfens umherschwimmen. Wenn eine in der Eile in die gefährliche Zone am Rande gelangt, so platzt sie plötzlich explosionsartig, sich in Kügelchen ergießend, welche auch bald verschwinden. Eine ähnliche Wirkung zeigte eine 0,05 proz. Formalinlösung (entspricht 0,02 proz. CH_2O). Das Zer-

[1]) Diese Kugelbildung erinnert in gewisser Beziehung an die Abrundung von *Vibrio proteus* unter dem Einfluß absoluten Nahrungsmangels in flüssiger Umgebung. Die Kügelchen von *Vibrio* sind aber im Vergleich mit den nur kurz sich erhaltenden *Glaucoma*kugeln viel fester und dauerhafter, was nicht zu verwundern ist, wenn man ihre starre Hülle, deren die letzten entbehren, in Betracht nimmt.

störungsbild der Zelle, wie es bei höheren Konzentrationen des Agens entsteht, stellt Fig. 30 (Taf. VI) dar. Es bleibt nach der Zelle ein Gerüst mit den gesträubten Wimpern übrig; der flüssige Inhalt ergießt sich in Blasen, die nacheinander bersten; bei *a* ist noch die letzte geblieben.

Nicht so charakteristisch und auch viel schwächer war die Wirkung einer gesättigten wässerigen Chloroformlösung, einer 5 proz. Ätherlösung und 0,2 proz. Phenollösung. Die Wirkung dieser Agentien in den angegebenen Konzentrationen äußerte sich hauptsächlich in den verschiedenen Bewegungsänderungen. So z. B. verursachte Chloroform eine kegelförmig drehende Bewegung der Zelle unter öfterem Umkippen des ganzen Körpers [1]); eine drehende Bewegung schien auch Phenol zu verursachen, während die Wirkung des Äthers hauptsächlich eine lähmende war.

Vorticella.

Da durch Ammoniak sich verhältnismäßig die größten Gestaltsänderungen an der lebenden *Glaucoma*-Zelle hervorbringen ließen, wurde bei der *Vorticella* die Hauptaufmerksamkeit auf die Wirkung dieses Agens gelenkt. Als Gegenteil kam Essigsäure zur Anwendung.

Im allgemeinen ist *Vorticella* ebenso für NH_3 wie für Essigsäure weniger empfindlich als *Glaucoma colpidium.* Die morphologischen Veränderungen sind denjenigen bei *Glaucoma* im Grunde ähnlich. Nach 10 bis 15 Minuten Wirkung einer 0,05 bis 0,1 proz. NH_3-Lösung bemerkt man ebenso das Heranwachsen der Vakuole, welche zu pulsieren aufhört, im Zellinnern, dann das Entstehen von Blasen am Peristomfeld, welches selbst auch blasenförmig aufgetrieben wird. Jetzt kommen auch die Wimpern zum Stillstand und die Zelle schwillt in ihrem ganzen Körper, ganz bedeutend am unteren kegelförmig zugespitzten Teil, welcher bauchförmig erweitert wird (Taf. VI Fig. 31). Die dem Tode schon nahe stehende Zelle rollt ihren Stiel langsam ein, um ihn nach dem Tode wieder zu entrollen; die mittlere kontraktile Faser erscheint dann in Stücke zerrissen, was beweist, daß ihr Absterben in der „Kontraktionsphase" [2]) erfolgt. Dauert die Wirkung der schädlichen Dämpfe fort, so platzt schließlich die Zelle an der am meisten angegriffenen Stelle des oberen Teils; am längsten bleibt die Myoidscheide erhalten.

[1]) Vgl. Albert Degen S. 173.

[2]) Max Verworn: Die Bewegung der lebendigen Substanz. Jena 1892.

Die Säure ist hier in einer 1 proz. Lösung noch fast ganz ohne Wirkung; diese tritt erst bei 2 proz. Konzentration ein. Bevor die Zerstörung des Organismus beginnt, sieht man hier auch zuerst den Zellinhalt deutlich hervortreten: den langen gekrümmten Kern, den Körnerinhalt des Protoplasmas und den Myoidstreifen im Stiel. Die Einrollung des Stieles vor dem Tode erfolgt hier ganz ebenso wie bei NH_3-Wirkung.

Auch bei anderen Infusorien, die gelegentlich, z. B. bei der Jauchenuntersuchung im Hängetropfen erschienen, konnte eine ähnliche Wirkung der Ammoniakdämpfe konstatiert werden, so daß die Blasenbildung und die Auftreibung des ganzen Körpers wahrscheinlich eine allgemeine Erscheinung unter dem Einfluß der ammoniakalischen Dämpfe bei den Infusorien ist.

Euglena oxyuris.

Das Verhalten von *Euglena oxyuris* gegenüber ammoniakalischer und essigsaurer Dämpfe bietet keine prinzipiellen Unterschiede betreffs der dabei stattfindenden Formveränderungen. Essigsäure bis zu 0,1 proz. Konzentration schien anfangs gar keine nachteilige Wirkung auf die Organismen auszuüben. Im Gegenteil, sie waren unter der Wirkung verdünnter saurer Dämpfe mehr beweglich, als beim Verschließen der Spaltöffnung mit Wasser und zeigten dieselbe hohe Empfindlichkeit auf die Richtung der sie beleuchtenden Sonnenstrahlen, wie sonst. Erst nach einer längeren Wirkungsdauer, z. B. nach $1^1/_2$ Stunde konnte man sehen, daß in dem sauren Tropfen schon absolute Ruhe herrschte mit den in der Mitte des Tropfens versunkenen Zellen, während in reinem Wasser einige in vertikaler Stellung im Schweben sich hielten, andere durch Zittern ihr Leben bezeugten.

Viel empfindlicher waren die Organismen gegenüber Ammoniak. Man konnte die Wirkung einer 0,02 proz. Lösung etwa nach 10 Minuten sehr deutlich wahrnehmen: in der Mitte des Tropfens zu einem Haufen versammelt sind die Zellen nur noch ganz schwach an der Stelle beweglich. Ihre äußere Gestalt bietet kein einheitliches Bild: die einen sind gestreckt, die anderen zusammengezogen, in den metabolischen Bewegungen alle deutlich gelähmt. Ersetzt man in diesem Stadium die NH_3-Lösung im Spalt durch 0,1 proz. Essigsäure, so sieht man nach einer gewissen Zeit, daß einige von den Zellen mehr lebendig werden und sich auch in der Lichtrichtung durchzuarbeiten

suchen. Die abgestorbenen Zellen, nach längerer Wirkung von NH_3 und Essigsäure, haben alle dieselbe Gestalt: sie sind in der Mitte etwas aufgebläht, weisen keine größeren Einbiegungen des Körpers auf, wie man das bei den lebendigen immer sieht (Taf. VI Fig. 32), und besitzen meistens je eine große Vakuole in der Mitte (Taf. VI Fig. 33). Irgend welche blasige Auftreibungen an der Körperoberfläche wurden auch bei stärkerer Ammoniakwirkung (bis 0.1 Proz.) nicht bemerkt.

Eigenartig und in gewisser Beziehung unvergleichbar ist die Wirkung der Anilindämpfe auf die Gestalt von *Euglena oxyuris*.

Wird der Spalt mit halbgesättigtem oder gesättigtem Anilinwasser geschlossen, so sieht man, daß jede *Euglena*-Zelle, welche in die Wirkungssphäre der Anilindämpfe kommt, zuerst in ihrer fortschreitenden Bewegung angehalten wird. Die Zelle wird manchmal ganz gerade stabförmig, manchmal kommaartig gekrümmt, immer aber hat sie zeitweilig die metabolische Bewegungsart verloren und sieht aus, als ob sie ausgezogen wäre (Taf. VI Fig. 34).

Ersetzt man sofort die Anilinlösung durch Wasser, so gewinnen die Zellen ihre Beweglichkeit wieder; sie drehen sich spiralig unter den mannigfaltigsten Gestaltsänderungen (Taf. VI Fig. 25). Läßt man die Anilindämpfe länger wirken, so ziehen sich die Zellen später auch zusammen, und zwar beginnt die Verdickung meistens am hinteren Ende, wobei nur der starre Schwanz aus der birnenartig verdickten Zelle hervorragt; das Vorderende wird zuletzt eingezogen (Taf. VI Fig. 36). Man könnte sagen, daß die normale spiralig gekrümmte metabolische Bewegung der *Euglena*-Zellen in eine geradlinige übergegangen ist.

Die unter der Wirkung von Anilindämpfen abgestorbenen Zellen haben die normale Gestalt (Taf. VI Fig. 33).

Wahrscheinlich ist es die Beschaffenheit der Zellwand, welche den Unterschied des Verhaltens der *Euglena* im Vergleich zu den Infusorien gegenüber der chemischen „Reize" bedingt (die ganz spezifische Wirkung von Anilin ausgenommen). *Euglena* wird in dieser Beziehung viel besser geschützt, wie das aus ihrem ganzen Verhalten ohne weiteres ersichtlich ist.

Amoeba proteus.

Amoeba proteus kann in ihrer Empfindlichkeit gegenüber der Wirkung saurer und ammoniakalischer Dämpfe mit *Vorticella* verglichen werden. Wie diese ist auch jene viel empfindlicher gegen

die Ammoniakwirkung als gegen Säurewirkung. Der Unterschied ist hier noch größer, indem einer 0,05—0,1 proz. NH_3-Lösung erst eine 5—10 proz. Säurekonzentration entspricht. Die anfängliche Reaktion der Zelle ist immer dieselbe: die Aussendung von Pseudopodien hört auf, anstatt deren kurze Höcker von allen Seiten her ausgestreckt werden. Diese Höcker werden immer kleiner, erscheinen aber dafür immer zahlreicher, so daß nach einiger Zeit die ganze Zelloberfläche wie mit Warzen bedeckt ist (Taf. VI Fig. 37). Anfangs bekommt man den Eindruck, daß die von der schädlichen Wirkung des Agens betroffene Zelle allseitig einen Ausweg von ihrer Lage sucht; später, nachdem der ganze Plasmaklumpen ringsherum gleichmäßig warzig geworden ist und einige Zeit ruhig in dieser Gestalt verbleibt, scheinen die Oberflächenspannungsverhältnisse des aus dem lebendigen Organismus entstehenden Flüssigkeitstropfens ins Hauptspiel zu treten. Das definitive Erlöschen des Lebens in der Zelle bezeugt sich durch allmähliche Ausgleichung ihrer Oberfläche — sie wird endgültig zu einem strukturlosen Flüssigkeitströpfchen. In der Tat, entfernt man das schädlich wirkende Agens, bevor der Organismus getötet wird, d. h. bevor er zur vollkommenen Abrundung gekommen ist, so gelingt es, ihn wieder zum normalen Leben zu bringen. Der körnige Inhalt der Zelle tritt nach einer Ruhezeit (etwa $1/2$ Stunde) deutlicher hervor, es beginnt die Arbeit der Vakuole und es dauert nicht lange, so sieht man die Amöbe sich wieder phlegmatisch hin und her herumwälzen. Kommt aber die Besserung der Lebenslage zu spät, so tritt auch keine Heilung mehr ein: die zu einem Tropfen gewordene Amöbe läßt sich nicht wieder beleben; früher oder später platzt sie ganz wie die abgerundete *Glaucoma*-Zelle (Taf. VI Fig. 29).

Das ganze Spiel kann sehr verkürzt werden, eventuell fast mit Umgehen des Warzenstadiums, wenn vom Anfang an mit einer stärker konzentrierten Ammoniaklösung gewirkt wird. Dann bemerkt man nur eine rasch eintretende Abrundung des Amöbenkörpers, ihre „Totenstarre“, welcher unmittelbar das Platzen folgt. Eine noch energischere momentane Wirkung kann man mit starker Essigsäure (über 10 Proz.) erreichen: die Amöbe wird nicht einmal abgerundet, sondern an der Stelle in ihrer momentanen Lage fixiert (Taf. VI Fig. 38) und kurz darauf zerstört. Bei nicht so energischer Säurewirkung erfolgt in der getöteten Zelle eine Sonderung ihres Inhaltes in zwei Schichten: die innere dunklere Partie ist mit einer durchsichtigen Zone umgeben (Taf. VI Fig. 39).

Die Wirkung der Anilindämpfe war im allgemeinen derjenigen

von Ammoniak gleich, nur insofern milder, daß die Wiederbelebung der angegriffenen Zelle ans dem Warzenstadium leichter und rascher erfolgte.

Résumé.

Die vollkommene oder partielle Abrundung verschiedener einfacher Organismen, wie Rhizopoden, Infusorien usw. unter der Wirknng gewisser chemischer Substratänderungen ist lange bekannt. Bei den Rhizopoden führt sie Verworn[1]) zusammen mit anderen Erscheinungen, wie „Ausstoßen von Körperinhalt (Nahrungsmassen, Körnchen, hyalinen Kugeln mit mehr oder weniger Flüssigkeit, ja sogar von Plasmateilchen und Zellkernen nsw.) . . . auf eine Kontraktion des Protoplasmakörpers oder einzelner Teile desselben zurück".

Prof. Art. Meyer hat vor kurzem[2]) über die Abrundung bei *Bacillus cylindricus* berichtet. In dieser Schrift ist sie für *Vibrio proteus* nachgewiesen. Wahrscheinlich kommt diese Erscheinung noch viel öfter im Bakterienreiche vor. Hier wird die Abrundung nicht durch Kontraktion, vielmehr durch eine Aufblähung der Organismen hervorgebracht. Für *Vibrio proteus* erwies sie sich als eine Krankheits- und Schwächungserscheinnng und kann in diesem Falle als „vortödlich" bezeichnet werden. Auch bei den Infusorien und z. B. bei *Euglena* ist eine teilweise Abrundung der Körpergestalt die Folge einer Aufblähung des Organismus und wird durch gewisse Diffusionsstörungen verursacht. Hier ist aber diese Deformation für den Organismus viel weniger gefährlich als bei den Bakterien, was wahrscheinlich mit den Strukturverhältnisen der Bakterienmembran im Zusammenhange steht.

Die Teilungsversuche an den niederen Organismen[3]) haben gezeigt, wie leicht die Merozoiten ihre Pelliculahülle zn regenerieren imstande sind. Die beschriebene Wiederbelebung und Heilung der durch Alkoholwirknng angegriffenen *Glaucoma*-Zellen bietet auch ein Zeugnis ihrer großen Regenerierungsfähigkeit. Bakterielle Merozoiten sind bis jetzt, scheint mir, nicht bekannt. Ihr Verhalten

[1]) Max Verworn: Psycho-physiologische Protistenstudien. Jena 1889.

[2]) Art. Meyer: Über Kugelbildung und Plasmoptyse der Bakterien. Ber. d. Dentsch. bot. Ges. 1905 S. 349.

[3]) S. Prowazek: Beiträge zur Protoplasmaphysiologie. Biol. Centralbl. 1901. Max Verworn: Psycho-physiologische Protistenstudien.

würde die wichtigsten Schlüsse in bezug auf die Rolle der Membran im Leben dieser Organismen ziehen lassen. Vielleicht würde sich dann die Unterscheidung der Organismen nach dem Alter ihrer Hüllen rechtfertigen und auch die innige Verbindung des ausgeschiedenen Plasmatröpfchens mit dem anhängenden Häutchen bei der Plasmoptyse von *Vibrio proteus* begründen lassen.

Was schließlich diese letzte Erscheinung betrifft, so hat die vor einigen Jahren ausgesprochene Hoffnung,[1]) daß die ausgeschiedenen Protoplasmagebilde „in geeigneter Lösung neue Membranen bilden und nach ausreichender Kräftigung wieder zu neuen Individuen von normaler Gestalt auswachsen würden", bis jetzt sich nicht erfüllt.

Die Plasmoptyse, ebenso bei *Vibrio proteus*, wie bei anderen Bakterien, ist eine Ausscheidung von Protoplasma an gewissen Körperstellen des betreffenden Organismus, welcher deformiert (noch einige Zeit) am Leben bleibt. Ob Plasmoptyse immer eine tödliche und irreparable Erscheinung ist, weiß man nicht. Von seiner „alten Haut" wird der Organismus — so viel bis jetzt bekannt — nicht getrennt und es ist eine offene Frage, ob er überhaupt ohne diese Haut leben kann.

[1]) Alfred Fischer: Die Empfindlichkeit der Bakterienzelle und das bakteriocide Serum. Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1900.

Zur Kenntnis von *Hyalodiscus rubicundus* Hertw. u. Lesser.

Von
H. R. Hoogenraad (Rijswijk, Holland).

(Hierzu 21 Textfiguren.)

A. Einleitung.

Die Lebenserscheinungen der interessanten Rhizopodengruppe der *Vampyrellida* sind zurzeit nur noch sehr unvollständig bekannt. Insbesondere gilt dies von der von Hertwig u. Lesser (1874) entdeckten und von ihnen *Hyalodiscus rubicundus* benannten Form, welche später von Klein (1882) dem Genus *Vampyrella* untergeordnet und als *Vampyrella pedata* bezeichnet wurde. Als ich daher im Sommer 1906 gelegentlich der Untersuchung der Rhizopoden- und Heliozoenfauna eines Teiches in der Nähe meines Wohnortes diese Spezies in ziemlich großer Individuenzahl auffand, suchte ich möglichst viele Beobachtungen nach dieser Richtung hin zu sammeln. Um so mehr wurde ich dazu veranlaßt, als ein im Vorjahre gemachtes Studium von *Vampyrella lateritia* Leidy mir hinsichtlich der Vermehrungserscheinungen nur negative Resultate geliefert hatte.

Ich studierte die Tiere in gewöhnlichen Deckglaspräparaten und kultivierte sie zugleich längere Zeit hindurch in feuchten Kammern. Beide Kulturmethoden erwiesen sich als sehr geeignet, indem sich die Tiere, unter Ersetzung des verdampfenden Kulturwassers durch frisches, in demselben Präparate tagelang am Leben erhielten und keine Spur irgendwelcher Degenerationserscheinungen zeigten. Um die bei längere Zeit andauernden Kulturen fast immer

auftretenden Ansammlungen von Bakterien und anderen Pilzen fernzuhalten, setzte ich nach der von Palla (1890) empfohlenen Methode der Kulturflüssigkeit kleine Mengen einer 0,01 proz. Lösung von Kaliumbichromat zu, ein Verfahren, das sich auch bei anderweitiger Anwendung gut bewährt hat. Eine durch das Salz hervorgerufene Schädigung meiner Objekte habe ich niemals konstatieren können.

Damit die Kerne besser sichtbar würden, benutzte ich außer den schon von Hertwig u. Lesser sowie auch von F. E. Schulze (1875) angewandten Reagentien Essigsäure und Kaliumbichromatlösung noch Boraxkarmin und Pikrokarmin. Die Färbungen wurden vorgenommen auf dem Objektträger, nachdem die Tiere in der von Korschelt (1882) angegebenen Weise mittels 2 proz. Chromsäure fixiert und in Alkohol gehärtet waren.

Die Figuren sind in 500 facher Vergrößerung dargestellt.

B. Morphologie.

Die ausführlichsten Schilderungen der morphologischen Verhältnisse von *Hyalodiscus rubicundus* rühren von Hertwig u. Leeser (1874), F. E. Schulze (1875, unter dem Namen *Plakopus ruber*) und Klein (1882) her. Auch Cash and Hopkinson (1905) geben eine ziemlich eingehende Erörterung der Körpergestalt. Die Arbeit von Penard (1902) habe ich leider nicht einsehen können. Ich habe den Ausführungen dieser Forscher nur weniges hinzuzufügen.

Bei der Betrachtung des Tieres von oben zeigt es zumeist die in Fig. 1 dargestellte Form. Der unregelmäßig querelliptische Plasmakörper, dessen Bewegungsrichtung von dem Pfeil angedeutet wird, mißt im größten Durchmesser 35—70 μ, im kleineren 20—50 μ; die Größe ist daher ziemlich variabel. Es macht sich eine scharfe, während der Bewegung sich allerdings oft verwischende Sonderung in ein vorderes Ektoplasma und ein hinteres Entoplasma bemerkbar; die Grenzlinie der beiden Regionen steht auf der Bewegungsrichtung nahezu senkrecht. Von Hertwig u. Lesser wird angegeben, daß das Entoplasma vom Ektoplasma immer allseitig umgeben wird; wenn diese Behauptung

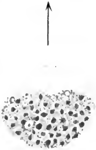


Fig. 1.

für alle Stadien des formveränderlichen Tieres ihre Gültigkeit hat, so ist doch bei der in Fig. 1 dargestellten Gestalt der hintere ekto-

plasmatische Randsaum so dünn, daß er auch bei stärkeren Vergrößerungen sich gänzlich der Beobachtung entzieht. Man vergleiche dagegen Fig. 6.

Wie aus der Betrachtung von der Seite her hervorgeht, ist der vertikale Durchmesser der beiden Körperteile ein sehr verschiedener. Während nämlich das Ektoplasma in der Form einer dünnen Lamelle vorgeschoben wird, steigt der Körper in der Gegend der Grenzlinie mehr oder weniger steil an, so daß das Entoplasma die Gestalt einer buckligen Erhebung erhält, welche am Hinterrande des Körpers steil herabfällt (Fig. 2).

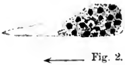


Fig. 2.

Der ektoplasmatische Körpersaum ist nicht, wie von Hertwig u. Lesser sowie von Schulze angegeben wird, völlig homogen und strukturlos, sondern erweist sich bei Anwendung stärkerer Vergrößerungen als sehr fein granuliert, was auch von Cash and Hopkinson bemerkt wird. In der Umgebung der Grenzlinie mischen sich zwischen diesen sehr feinen Granulis die gewöhnlichen mattblauen Körner des Rhizopodenplasmas, und das Entoplasma selbst ist dicht angefüllt mit großen aus der verdauten Nahrung herrührenden körnigen Einschlüssen, welche diesem Körperteil seine eigentümliche intensive Färbung verleihen, wodurch es sich vom vollkommen farblosen Ektoplasma so stark hervorhebt.

Diese Farbe ist zumeist ein lebhaftes Ziegelrot, welches mit zahllosen Nuancen durch ein schmutziges Braun in ein bräunliches Grün und schließlich in ein fast reines Grün übergeht. Kurz nach der Aufnahme der aus Chlorophyll bestehenden Nahrung herrscht die grüne Farbe vor, um bei weiter vorschreitender Verdauung in braun und rot überzugehen. Bei hungernden Individuen erblaßt die rote Farbe erheblich; vollkommen farblose Individuen habe ich aber niemals beobachtet. Der Farbenton des Entoplasmas ist am besten wiedergegeben in den Figuren von Hertwig u. Lesser und von Klein; wie letztgenannter Autor bemerkt, ist das Kolorit der Schulze'schen Abbildungen nicht richtig.

Die gefärbten Körner bedingen durch ihre dichte Anhäufung die schwere zeitweilige Sichtbarkeit der Vakuolen, welche noch am leichtesten an der Grenzlinie von Ento- und Ektoplasma aufzufinden sind (Fig. 1). Trotz fleißigen Suchens ist es mir nicht gelungen, kontraktile Vakuolen zu beobachten; auch frühere Forscher erwähnen sie nicht. Nur Schulze bemerkt hierzu, daß das Pulsieren der Vakuolen nicht immer deutlich zu beobachten war; man kann

aber aus seinen Worten nicht herauslesen, ob er ihre Kontraktion tatsächlich gesehen hat oder nicht.

Besondere Nahrungsvakuolen, in denen die Verdauung der Nahrung vor sich geht, fehlen.

Die Anwesenheit eines Kernes wird schon von Hertwig u. Lesser sowie auch von Schulze erwähnt; sein Bau sei der für die meisten Rhizopoden typische: ein dunkles Kernkörperchen umgeben von einem hellen Hof. Klein stellt dagegen das Vorkommen eines Kernes in Abrede. Zwar beschreibt auch er im Entoplasma eine dunkle Masse, „welche wahrscheinlich von den genannten Forschern“ (Hertwig u. Lesser, Schulze) „als Zellkern angesehen wurde, und von der ich nachweisen kann, daß sie bloß ein zur Ausscheidung bestimmtes Produkt des mit der Bewegung zusammenhängenden Atmens und Stoffwechsels ist“.

„Die Schwärmer dieser *Vampyrella* können nämlich auch ohne vorherige Nahrungsaufnahme einen vorübergehenden Ruhezustand annehmen, wobei sie einfach zur Ruhe kommen, eine dünne Membran ausscheiden und so eine freiliegende kugelige Cyste bilden. Später, wenn aus dieser Cyste der Inhalt wieder, und zwar ungeteilt als Schwärmer austritt, ist in demselben die dunkle und für einen Zellkern angesehene Masse nicht zu finden, dagegen enthält die leere Cystenhülle ein braunes Klümpchen, wie es in Mehrzahl auch in den gewöhnlichen Cysten nach dem Austritt der Schwärmer zurückbleibt. Nach dem Gesagten bin ich also der Ansicht, daß das, was Hertwig u. Lesser sowie F. E. Schulze als Kern ansehen, nur ein zur Ausscheidung bestimmtes Produkt des Stoffwechsels ist.“ (Klein, 1882, S. 206.)

Was nun meine eigenen Beobachtungen betrifft, so ist zunächst zu bemerken, daß die „dunkle Masse“ mit großer Konstanz im Entoplasma des *Hyalodiscus* auftritt. Bei durch reiche Nahrungsaufnahme sehr dunkelgefärbten Exemplaren ist sie gewöhnlich nicht sichtbar, in den allermeisten Fällen aber bietet ihr Auffinden keine erhebliche Schwierigkeit. Die betreffende Körperstelle sieht farblos oder etwas mattbläulich glänzend aus; in ihrer Mitte bemerkt man das Kernkörperchen, umgeben von dem Hof, der von Körnern frei ist, während um seinen Rand herum die Entoplasmakörner dichter aneinander gelagert scheinen als an irgend einer anderen Stelle des Körpers (Fig. 1 u. 2).

Eine Nachprüfung der von Hertwig u. Lesser und Schulze angewandten Kernreaktionen mit Essigsäure und Kaliumbichromatlösung gab ganz übereinstimmende positive Resultate. Ebenso

lieferten mit Chromsäurelösung fixierte und mit Karminfärbungen tingierte Exemplare in der intensiven Aufspeicherung des Farbstoffes durch die „dunkle Masse“ den unzweideutigsten Beweis der Kernnatur des in Rede stehenden Zellteiles.

Eine weitere Stütze dieser Auffassung erwuchs aus dem Studium der Encystierungserscheinungen. Einige Individuen zeigten nämlich nach erfolgter Nahrungsaufnahme zwei gleich große Kerne in geringer gegenseitiger Entfernung (Fig. 3). Färbungsversuche, an einigen dieser doppelkernigen Individuen angestellt, fielen ebenso aus wie bei den einkernigen Tieren. Nun folgte aber bei den nicht gefärbten zweikernigen Tieren innerhalb 6—12 Stunden die Encystierung, welche ich in drei Fällen bis zum Ausschlüpfen der Tiere verfolgen konnte.



Fig. 3.

Es stellte sich dabei heraus, daß in sämtlichen Fällen die Tiere während dem Austreten sich teilten und in der Zweizahl die Cyste verließen. Bei solchen Tieren aber, welche sich bei der Encystierung nicht teilten und also einzeln austraten, war vor der Encystierung in allen beobachteten Fällen nur ein einziger Kern zugegen.

Es scheint nach dem Gesagten daher, als ob bei den sich während des Cystenstadiums teilenden Tieren der Kern schon zur Teilung heranschreitet, wenn das Tier sich noch im aktiven Bewegungsstadium befindet.

Was hat es nun mit der Behauptung Klein's auf sich? Die Cysten von *Hyalodiscus* sind normalerweise einem Algenfaden angeheftet, aber auch freiliegende kommen gelegentlich vor. Keineswegs aber kann ich mich mit der Behauptung Klein's einverstanden erklären, daß diese freiliegenden Cysten immer nur ein einziges „braunes Klümpchen“ als unverdauter Nahrungsrest enthalten; nicht

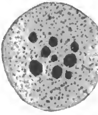


Fig. 4.

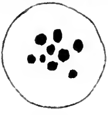


Fig. 5.

selten bemerkt man ihrer zwei, drei oder noch mehrere. In Fig. 4 ist eine solche freiliegende Cyste abgebildet mit nicht weniger als neun Nahrungsresten; Fig. 5 stellt die nämliche Cyste nach Austritt

des Tieres vor. Auch SCHULZE scheint derartige Cysten gekannt zu haben. „Züchtungsversuche mit *Plakopus ruber*“ (= *Hyalodiscus*), schreibt er, „welche einerseits in größeren Glasgefäßen, andererseits auf dem Objektträger in der feuchten Kammer gemacht wurden, schlugen fehl, so daß ich über die Vermehrnng des Tieres nichts Bestimmtes ermitteln konnte. Indessen will ich doch nicht unterlassen, hier auf eine Bildung aufmerksam zu machen, welche ich häufig mit vielen lebhaft sich bewegenden *Plakopus* zugleich antraf, nämlich scharf begrenzte kuglige Körper, etwa vom Durchmesser der kleineren Tiere, welche von einer dünnen hellen Membran umschlossen waren und im Innern eine große Menge ähnlicher rotbraun gefärbter Körnchen, wie sie bei *Plakopus* vorkommen, außerdem aber eine Anzahl dunkelbrauner kugeliger Körper enthielten, welche an Größe etwa dem Kernkörperchen unseres Tieres entsprachen und zuweilen in einer äquatorialen Gürtelzone gelagert waren“ (SCHULZE 1875, S. 351, 352). Vergleicht man die SCHULZE'sche Abbildung tab. 19 fig. 15, wo die Cyste zwölf Nahrungsreste enthält, mit meiner Fig. 4, so tritt die frappante Übereinstimmung beider Bilder ohne weiteres hervor. Daß, wie KLEIN behauptet, die als Zellkern gedentete Masse nach dem Austreten des Tieres nicht in demselben zu bemerken sei, ist ebenfalls unrichtig. Zwar stellen sich der direkten Beobachtung des Kernes in diesem Stadium wegen der dichten Häufung der Entoplasmaeinschlüsse nicht geringe Schwierigkeiten entgegen. Allerdings gelang es mir mehrere Male durch vorsichtiges Zerdrücken der Tiere und nachheriger Fixierung und Tinktion auch in diesem Stadium die Existenz eines Kernes außer Zweifel zu setzen.

Es handelt sich somit in der „dunklen Masse“ wohl um einen wesentlichen Zellkern.



Fig. 6.

Die Pseudopodien der typischen Form, wie sie anderen Spezies der Gattung *Vampyrella* (*Vampyrella lateritia* LEIDY, *V. pendula* CIENKOWSKI usw.) eigen sind, fehlen bei *Hyalodiscus* durchweg. Was SCHULZE als Pseudopodien beschreibt, welche in der Gestalt ganz dünner Membranen frei durch das Wasser vorgeschoben werden, dabei trichter- oder kappenförmige Hohlränme bildend mit nach außen gerichteter Mündung, sind nichts weiter als sich nach allen Seiten erhebende Falten des ektoplasmatischen Körpersaumes und von den eigentlichen Pseudopodien durchans verschieden. Nebenher sei bemerkt, daß diese für *Hyalodiscus*

allerdings sehr typische Erscheinung der Faltenbildung bei meinen Exemplaren zwar nicht fehlte (vgl. z. B. Fig. 6), aber bei weitem nicht so energisch auftrat, wie Schulze es beschreibt und in seinen Figuren abbildet.

Die radialen, fadenförmigen Pseudopodien, wie sie in typischer Ausbildnng vor allem den Heliozoen zukommen, entwickeln sich auch bei *Hyalodiscus* gelegentlich. In Fig. 7 ist dieses Stadium, welches ich nur wenige Male beobachtete, abgebildet. Auch Penard (1902,

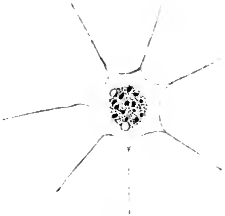


Fig. 7.

citiert bei Cash and Hopkinson, 1905. tab. 13 fig. 5) hat diese Form wahrgenommen und als Ruhestadium gedeutet.

Die Bewegung von *Hyalodiscus* ist zumeist eine sehr lebhafte und wird von Hertwig u. Lesser in vortrefflicher Weise geschildert.

C. Ernährung.

Die ersten Beobachter von *Hyalodiscus* hatten über dessen Ernährung nichts ermitteln können. Hertwig u. Lesser sprechen hinsichtlich der Art der Nahrnng keine Vermutungen aus, finden es aber wahrscheinlich, daß die Nahrung in das Körperparenchym eingedrückt wird, während das Tier über dieselbe hingleitet. Die gefärbten Entoplasmakörner seien offenbar mehr oder weniger assimilierte Nahrungsstoffe pflanzlichen Ursprungs. Schulze erwähnt das

Vorkommen intensiv grüner Körnchen neben den gewöhnlichen roten und den Übergang der einen Farbe in die andere; er meint ferner, daß die grünen Körner ursprünglich Chlorophyllkörner-ähnliche Gebilde waren, über deren Herkunft er sich nicht weiter verbreitet. West (1901) sagt über seine Exemplare, welche er unter dem Kleinschen Namen *Vampyrella pedata* aufführt, Folgendes: „They had previously been gorging themselves with food, as they were filled with large numbers of small Desmids, the contents of which had also become of the same red colour. I was at first inclined to regard them as forms of *Hyalodiscus rubicundus*, but I think there is no doubt that the form described and figured by Hertwig & Lesser is merely a stage of *Vampyrella pedata*" (West, 1901, p. 334).

Ausführliche und genaue Daten über die Ernährung finden sich dagegen bei Klein. *Hyalodiscus* ernährt sich nach ihm mit dem lebenden Zellinhalt von Chlorophyceen und zwar von *Oedogonium*-Arten. Die Tiere setzen sich seitlich dem *Oedogonium*-Faden an und zerlöchern die Zellwand; dann wird der Zellinhalt entweder ganz (bei kleineren Zellen) oder nur teilweise aufgenommen. Bei kleinzelligen Oedogonien wird der Inhalt mehrerer Zellen nacheinander erbeutet. Je nach der Menge der aufgenommenen Nahrung ist die ursprünglich rote Farbe mehr oder weniger durch die grüne des Chlorophylls modifiziert, bis nach 1—3 Tagen die dem Reifezustand entsprechende Färbung angenommen wird und die dunklen Flecken erscheinen, die den unverdauten Nahrungsrückständen entsprechen.

Was nun zunächst die Art des Nahrungsmaterials anbelangt, so ist nach meinen Erfahrungen *Hyalodiscus* nicht weniger wählerisch wie die *Vampyrella*-Arten. Ausnahmslos ernährten sich meine Tiere ebenso wie die von Klein beobachteten mit dem Inhalte von *Oedogonium*-Zellen. Im ursprünglichen Kulturwasser waren *Oedogonium*- und *Spirogyra*-Arten mit etwa gleicher Häufigkeit vertreten, daneben noch andere Chlorophyceen, endlich Diatomeen und Desmidiaceen in großer Spezies- und Individuenzahl. In diesem gemischten Material war die Nahrungsauswahl immer eine extrem einseitige: niemals wurden andere Algen als *Oedogonium* angegriffen. Und selbst als ich den Versuch machte, die Tiere absichtlich in eine von Oedogonien freien Umgebung zu bringen, beharrten sie bei den ihnen eigenen Gewohnheiten: es wurde keine andere Chlorophyllnahrung, weder von *Spirogyra*, noch von Desmidiaceen oder Diatomeen aufgenommen, und die Tiere gingen schließlich unter ausgesprochenen Inanitionserscheinungen ein.

Bei der Nahrungsaufnahme verfährt *Hyalodiscus* in derselben Weise wie auch *Vampyrella lateritia*. Nachdem das Tier sich einer *Oedogonium*-Zelle seitlich angesetzt, sieht man eine Zeitlang kaum irgend welche Veränderung vor sich gehen, indem das Tier sich ganz ruhig und bewegungslos verhält; es ist damit beschäftigt, die Wand der Zelle zu lösen. In welcher Weise es dabei vorgeht, ist nicht bekannt. Nach einiger Zeit stürzt sich plötzlich der Chromatophor der Zelle mit dem Protoplasma durch das entstandene Loch; gewöhnlich ist dieser Akt innerhalb einer oder zwei Minuten vollendet und der gesamte Inhalt der pflanzlichen Zelle in das Körperplasma des Tieres hinübergegangen, wo der Chromatophor noch deutlich als eine grüne Masse zu unterscheiden ist (Fig. 8). Ein Abbrechen des Chromatophoren habe ich bei *Hyalodiscus* nicht beobachtet, bezweifle

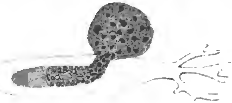


Fig. 8.

aber nicht, daß die diesbezügliche Beobachtung Klein's ihre Richtigkeit hat. Der allgemeine Verlauf des beschriebenen Vorganges ist ziemlich einförmig; eine ganz eigentümliche Erscheinung, welche der Nahrungsaufnahme folgte und meines Wissens bisher noch nicht beobachtet wurde, teile ich im Folgenden mit.

Wenn der Übergang des pflanzlichen Zellinhaltes in den Körper von *Hyalodiscus* vollendet ist, entfernt das Tier sich nicht immer sogleich, wie das zumeist der Fall ist, sondern beharrt bisweilen in seiner Stellung über der Öffnung in der Zellwand. Einige Zeit später erscheint ein farbloser Plasmafortsatz an der Außenseite des Tierkörpers, und zwar an dessen der Zellöffnung zugewendeten Seite, welcher sich allmählich weiter ausdehnt und sich durch die Öffnung selber in der leeren *Oedogonium*-Zelle ausbreitet. Am distalen Ende dieses Fortsatzes bilden sich alsbald sehr feine, spitze, pseudopodienartige Ausläufer aus, welche tastend wie Finger der Innenwand der Zelle entlang gleiten, um dann an einer der beiden Querwände, welche die Zelle von den beiden benachbarten scheiden, zur Ruhe zu kommen (Fig. 9). Weiteres Protoplasma fließt nun nach, bis schließlich die spitzen Ausläufer wieder verschwunden sind und das nunmehr

stumpfe Vorderende des Plasmafortsatzes der Querwand der Zelle dicht anliegt (Fig. 10). Nun tritt wieder einê Ruhepause ein, während welcher man die Plasmamasse in der leeren Zelle gemach beobachten kann. Wie gesagt, ist er ganz farblos, aber sehr deutlich gekörnelt.



Fig. 9.

Die Körner sind in nur geringer Bewegung oder ganz in Ruhe. Bisweilen meinte ich aus Einzelheiten des optischen Querschnittes des Fortsatzes die Ansicht zu gewinnen, daß es sich in ihm um ein hohles Gebilde handelte, indem die beiden Längsseiten bei mittlerer

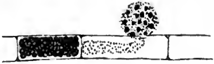


Fig. 10.

Einstellung beträchtlich dunkler aussahen als der centrale Teil. Mit Sicherheit kann ich das aber nicht behaupten.

Nachdem nun das Tier eine gewisse Zeit in seiner Stellung beharrt, entsteht eine Öffnung in der Querwand der *Oedogonium*-Zelle, der Inhalt der benachbarten Zelle kommt in Bewegung, wird langsam durch die Öffnung hindurchgezogen und wandert dem in der leeren Zelle steckenden Protoplasmafortsatz entlang dem *Hyalodiscus*-Körper zu. Gleichzeitig verschwindet auch der Protoplasmafortsatz selber, und entweder entfernt das Tier sich nun, oder es



Fig. 11.

bildet nach einiger Zeit einen gleichen Fortsatz, um damit auch die auf der anderen Seite gelegenen Zellen in gleicher Weise zu entleeren (Fig. 11—14).

Nicht immer verläuft der Vorgang so glatt, wie geschildert. Es kommt vor, daß bei der Plünderung einer seitlichen Zelle durch

die Querwand hindurch, der Chromatophor sich zu einem unregelmäßigen Klumpen zusammenballt, welcher zu groß ist, um die Öffnung in der Querwand zu passieren; dann bricht der Chromatophor ab und bleibt teilweise in der Zelle zurück.

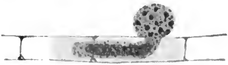


Fig. 12.

Die seitlich in den Zellwänden der Oedogonien gemachten Öffnungen sind oft unschwer aufzufinden. Es hatte aber alsbald meine Aufmerksamkeit auf sich gezogen, daß bei einigen leeren Zellen, deren Entleerung ich der Tätigkeit von *Hyalodiscus* zuschrieb, die Löcher auch mit der größten Mühe nicht zu entdecken waren.



Fig. 13.

Diese Tatsache findet nun ihre Erklärung in dem Umstand, daß der Zellinhalt diese Zellen durch die Querwand verlassen hatte, um durch die nächstliegende Zelle in den *Hyalodiscus*-Körper hinüber zu wandern. Unschwer konnte ich nun bei weiterem Nachsuchen leere Zellen in Gruppen von je drei nebeneinander finden, deren



Fig. 14.

mittelste eine Öffnung in der Längswand aufwies, während den beiden seitlichen eine solche fehlte. Die Öffnungen in den Querwänden direkt zu beobachten ist mir nicht gelungen. Bedenkt man, daß die Flächen dieser Wände fast immer in der Gesichtslinie liegen und nur ausnahmsweise von ihrer flachen Seite zu sehen sind, so ist das wohl begreiflich.

D. Encystierung.

Wenn so das Tier den Inhalt einiger Zellen aufgenommen hat, schreitet es zur Encystierung. Die Cysten, welche übrigens auch, wie schon Klein bemerkt, ohne vorherige Nahrungsaufnahme entstehen können, liegen entweder frei im Wasser oder, was am meisten der Fall ist, sind einem *Oedogonium*-Faden angeheftet (Fig. 15—21).

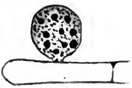


Fig. 15.

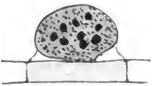


Fig. 16.



Fig. 17.

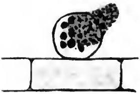


Fig. 18.

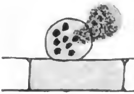


Fig. 19.

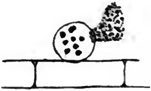


Fig. 20.

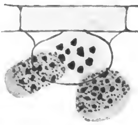


Fig. 21.

Oft findet die Encystierung statt gerade an derjenigen Zelle, deren Inhalt die letzte Nahrung des Tieres ausmachte. Es nimmt das Tier dann eine mehr oder weniger kugelige oder unregelmäßige Gestalt an nnd scheidet jetzt an seiner Oberfläche eine dünne Membran aus. Ich habe mir große Mühe gegeben zu entscheiden, ob diese

Membran, wie Klein dartut, einfach ist, oder ob vielleicht noch eine zweite Hülle um die erstere besteht, welche dann dem von Cienkowski (1865) so genannten Schleier (Velum) entsprechen würde. Anfangs vermochte ich nichts derartiges aufzufinden. Als sich mir indessen die Gelegenheit dargeboten hatte, ein umfangreiches Material von *Vampyrella pendula* Cienk. zu studieren, an deren Cysten der Schleier ziemlich leicht zu beobachten ist, nahm ich, gestützt auf dieses Vergleichsmaterial, auch an *Hyalodiscus* die Untersuchungen wieder auf. Und tatsächlich gelang es mir nun an einigen günstigen Objekten, dort wo die Cystenmembran sich der Wand der *Oedogonium*-Zelle nähert, eine sehr feine Linie zu finden, welche ich für den Schleier halten möchte (Fig. 16 u. 21). Die Schwierigkeiten der Beobachtung sind aber groß, und meiner Mitteilung möchte ich daher nur einen provisorischen Wert beimessen; vielleicht gelingt es später sie definitiv zu bestätigen.

Der Körper von *Hyalodiscus* füllt den Hohlraum der Cyste gänzlich aus, so daß ein leerer Raum um denselben, wie er z. B. bei *Vampyrella lateritia* vorkommt, hier fehlt (Fig. 15 u. 16). Ein oft, aber nicht immer auftretendes Gebilde an der Cyste ist ein kurzer Stiel, mit dem die Cyste in der leeren *Oedogonium*-Zelle steckt (Fig. 17). Auf diesen fußförmigen Fortsatz bezieht sich der Speziesname der Klein'schen Bezeichnung *Vampyrella pedata*.

Der encystierte Zustand währt einen oder zwei Tage, mitunter auch wohl länger. In diesem Zeitraum ändert sich der Inhalt der Cyste kaum: nur treten mit stets zunehmender Deutlichkeit die unverdauten Nahrungsrückstände in der Form dunkelbrauner, oft fast schwarzer Massen im Körperplasma hervor (Fig. 15 u. 16). Endlich tritt der Inhalt der Cyste aus; bei kleineren Cysten ungeteilt (Fig. 18—20), bei größeren unter gleichzeitiger Zweiteilung, wobei die beiden Teilhälften durch zwei verschiedene Öffnungen in der Membran der Cyste dieselbe verlassen (Fig. 21). Eine Teilung in mehr als zwei Teile kam nicht vor. In der Cystenhülle bleiben die Nahrungsreste zurück (Fig. 17, 20, 21). Die eben ausgetretenen Tiere nehmen fast momentan die gewöhnliche *Hyalodiscus*-Gestalt an.

Die von Klein erwähnten Doppelcysten habe ich nicht gesehen. Auch Dauercysten, wie sie z. B. bei *Vampyrella pendula* häufig sind, scheinen nicht vorzukommen.

E. Vermehrung.

Die im Vorhergehenden beschriebene Teilung im encystierten Zustande ist der einzige bisher beobachtete Reproduktionsmodus von *Hyalodiscus*; eine freie Zellteilung ohne vorherige Encystierung ist unbekannt. Wie oben angedeutet wurde, findet die Kernteilung wahrscheinlich statt, bevor das Tier sich encystiert; den Modus der Kernvermehrung vermochte ich nicht zu verfolgen.

Die beiden Teilhälften eines Individuums wandern kürzere oder längere Zeit umher, nehmen Nahrung auf, encystieren sich und treten ungeteilt oder nach Zweiteilung aus, womit der augenscheinlich einfache Lebenscyklus des Tieres geschlossen ist.

Ich möchte an dieser Stelle noch einige Bemerkungen einschalten bezüglich eines Punktes der Arbeit Klein's über *Vampyrella* (inkl. *Hyalodiscus*). Hauptzweck dieser Arbeit ist, wie der Autor selber sagt, zu zeigen, daß die Hauptmomente der Entwicklung der *Vampyrella* „mehr pflanzlicher Natur sind und daß sie somit mit größerem Rechte als Pflanze denn als Tier anzusehen ist". Eine nicht geringe Stütze dieser Auffassung ist die von Klein mit großem Nachdruck betonte Neigung der meisten *Vampyrella*-Arten zur „Kopulation der Schwärmer". Obgleich nun Klein bei *Hyalodiscus* die „Paarung der Schwärmer" nicht direkt beobachtet hat, meint er doch aus gewissen Tatsachen dieselbe indirekt folgern zu können. Es schien mir aber von vornherein, als ob genannter Forscher die Bedeutung der Konjugation für die *Vampyrella*-Arten sehr überschätzt hat, und es war mir daher sehr daran gelegen, bei *Hyalodiscus* etwaigen Konjugationserscheinungen auf die Spur zu kommen. Ich wandte somit diesem Punkt vom Anfang meines Studiums an meine volle Aufmerksamkeit zu. Aber nicht ein einziges Mal trat bei meinen Tieren eine Konjugation zweier Individuen auf, auch nicht wenn zwei Individuen sich einander zum Berühren genähert hatten. Nun versuchte ich die Möglichkeit einer Konjugation zu vergrößern, indem ich die Tiere in großer Zahl in ein und dasselbe Präparat zusammenbrachte, so daß der Kulturtropfen zuletzt nicht weniger als 40—50 Individuen enthielt. Aber alle meine Bemühungen blieben erfolglos: es trat eine Konjugation zweier Tiere niemals ein.

Wiewohl ich also das eventuelle Vorkommen einer Konjugation bei *Hyalodiscus* nicht entschieden in Abrede stellen kann, so möchte ich dennoch ausdrücklich hervorheben, daß bisher kein einziger Forscher sie direkt beobachtet hat, und daß bei meinem im ganzen

vielleicht aus nahezu 200 Individnen bestehenden Material selbst absichtlich der Vorgang nicht hervorzurufen war.

F. Systematische Stellung.

Die nnbeschalten Rhizopoden werden zweckmäßig in die drei Gruppen der *Lobosa*, *Reticulosa* und *Vampyrellida* eingeteilt. Obwohl diese Einteilung eigentlich nnr die Natnr der Psendopodien als Principinm divisionis berücksichtigt, so erscheint sie dennoch als eine natürliche, angesichts des Mangels an anderen scharf umschriebenen Merkmalen der Körperbeschaffenheit. Ob man genannte Gruppen als Familien oder als Ordnungen auffassen will, ist von nebensächlicher Bedeutung.

Die Pseudopodien der *Lobosa* sind gewöhnlich am distalen Ende stumpf und abgerundet, znweilen eingeschnitten, diejenigen der *Reticulosa* zeichnen sich aus durch ihre mehr fadenförmige Gestalt. sind dabei oft sehr reich verzweigt nnd bilden durch Zusammenfließung weitmaschige Protoplasmanetze. Die *Vampyrellida* stehen gewissermaßen in der Mitte zwischen den zwei vorigen Abteilnngen: während nämlich ihre Psendopodien zwar spitz nnd fadenförmig sind und selbst an ihrer Basis sich mehr oder weniger verästeln können (z. B. *Nuclearia delicatula* Cienk., *Nuclearia conspicua* West), fließen sie niemals zusammen nnd ist die bei den *Reticulosa* vorkommende Netzbildung hier ausgeschlossen. Durch den Bau der Psendopodien nähern sich die *Vampyrellida* den *Heliozoa*, und Exemplare von *Vampyrella lateritia* oder *Nuclearia delicatula* können z. B., wenn der Plasmakörper zeitweise eine kugelige Form annimmt. einem *Heliozoon* täuschend ähnlich sehen.

Welche Stellnng nimmt nun *Hyalodiscus rubicundus* innerhalb dieser Gruppen ein? Von Klein wurde er einfach dem Genus *Vampyrella* nntergeordnet; wo aber die für dieses Genus typischen Pseudopodien bei *Hyalodiscus* durchweg fehlen und nur bei hoher Ausnahme (Fig. 7) vorkommen, ist eine derartige Klassifikation zweifelsohne unrichtig. Aber auch in der ganzen Grnppe der *Vampyrellida* nimmt das Tier eine Sonderstellnng ein. Wenn man nämlich in dieser Gruppe die Genera *Vampyrella*, *Nuclearia*, *Archerina* nnd *Hyalodiscus* vereinigt, da sind den drei erstgenannten Gattungen die fadenförmigen spitzen Pseudopodien gemeinsam, bei *Hyalodiscus* fehlen sie dagegen. Die Unterordnnng von *Hyalodiscus* zur *Vampyrellida*

geschieht demnach nur unter Erweiterung der spezifischen Merkmale der Gruppe und zwar wegen der zunächst aus physiologischen Gründen angenommenen Verwandtschaft des Tieres mit der Gattung *Vampyrella*. Berücksichtigt man aber die sehr auffallende Übereinstimmung der entwicklungsgeschichtlichen Daten der Gattungen *Vampyrella* und *Hyalodiscus*, dann scheint es nicht angemessen, letztere Gattung von den *Vampyrellida* auszuscheiden und sie den *Lobosa* unterzuordnen, denen sie dann jedenfalls am nächsten verwandt sein möchte.

Es scheint daher berechtigt, in *Hyalodiscus rubicundus* eine zur *Vampyrellida* gehörige Tierform zu erblicken, welche den Übergang dieser Gruppe zu den ihr nahe verwandten *Lobosa* vermittelt.

Oktober 1906.

Wichtigste Literatur.

Cienkowski, L. (1865): Beiträge zur Kenntnis der Monaden. Arch. mikr. Anat. V. 1.

Hertwig, R. u. Lesser, E. (1874): Über Rhizopoden und denselben nahestehende Organismen. Arch. mikr. Anat. V. 10. (Suppl.)

Klein, J. (1882): *Vampyrella* Cienk., ihre Entwicklung und systematische Stellung. Bot. Centralbl. V. 11.

Korschelt, E. (1882): Eine neue Methode zur Konservierung von Infusorien und Amöben. Zool. Anz. V. 5 Nr. 109.

Palla, E. (1890): Beobachtungen über Zellhautbildung an des Zellkernes beraubten Protoplasten. Flora.

Penard, E. (1902): Faune rhizopodique du Bassin du Léman.

Schulze, F. E. (1875): Rhizopodenstudien III—V. Arch. mikr. Anat. V. 11.

West, G. S. (1901): On some British Freshwater Rhizopods and Heliozoa. J. Linn. Soc. Zool. V. 28.

— (1903): Observations on Freshwater Rhizopods, with some Remarks on their Classification J. Linn. Soc. Zool. V. 29.

Die weitere Literatur findet sich zusammengestellt bei

Cash, J. and Hopkinson, J. (1905): The British Freshwater Rhizopoda and Heliozoa. V. 1 Part I.

Aus dem Königlichen Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.
Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Dr. Gaffky.
Abteilungsleiter: Dr. Schilling.

Spirochaeta culicis nov. spec.

Von
Dr. J. Jaffé
Assistenten am Institut.

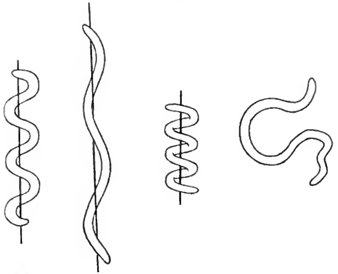
(Hierzu Tafel III u. 2 Textfiguren.)

Die seit der Entdeckung der *Spirochaeta pallida* durch Schaudinn in den Vordergrund des Interesses gerückten Spirochätenstudien lassen jeden neuen Beitrag zur Erforschung der Lebenserscheinungen dieser Organismen erwünscht erscheinen. Die Gelegenheit, einen solchen Beitrag zu liefern, bot sich mir in der Auffindung einer bisher noch nicht beschriebenen Art dieser Lebewesen im Magendarmkanal der Larve einer heimischen weitverbreiteten *Culex*-Art.

Das Untersuchungsmaterial stammte hauptsächlich aus einer nicht weit vom Institut für Infektionskrankheiten zwischen Stallgebäuden gelegenen Cysterne, in die außer dem Regenwasser auch noch die durch die undichten Stallmauern hindurchsickernden Abwässer aus den von Pferden besetzten Ställen Zutritt hatten.

Einen zweiten Fundort für *Culex*-Larven bot eine im Institutsgarten zwischen Gebüsch stehende Karre, in der sich während des Sommers Regenwasser angesammelt hatte. In ungefähr 90 Proz. der von diesen beiden Orten entnommenen *Culex*-Larven konnte die im folgenden zu beschreibende Spirochäte in großen Mengen nachgewiesen werden. Die Suche nach diesen Organismen in dem die Larven beherbergenden Wasser war ergebnislos, sei es, daß die Proben aus tieferen Schichten nach Umwühlen des Cysterneninhaltes, sei es, daß sie ganz vorsichtig von der Oberfläche entnommen wurden.

Die Präparation des Magendarmkanals der Larve ist leicht zu bewerkstelligen. Nach Ablösnng des Kopfes und Lockernng des letzten Leibesringes läßt sich der Darm meist unverletzt herausziehen. Man sieht dann schon bei Anwendung der Trockenlinse, Zeiss DD Vergr. 220, die Spirochäten oft in großen Mengen längs der Darmwand parallel zu dieser gestellt, besonders gut an Stellen, wo durch Verschiebung des Darminhaltes eine Lücke entstanden ist, in lebhaftester Bewegung, durch diese gut kenntlich. Die nach Zerstörung der Darmwand in die freie Flüssigkeit gelangten Individuen bieten infolge ihrer Größe — sie übertreffen darin die kürzlich von Hartmann u. Mühlens (1) beschriebene *Spirochaeta buccalis* um ein geringes — ein günstiges Objekt zur Beobachtung der verschiedenen Bewegungsphasen, die die Spirochäten überhaupt im Gegensatz zu den starren nur der schraubenförmigen Bewegung nach vor- oder rückwärts fähigen Spirillen auszeichnen. Diese mannigfaltigen, in der Literatnr zwar schon häufig beschriebenen, aber soweit mir bekannt, noch niemals bildlich wiedergegebenen Bewegungsmöglichkeiten seien bei der Wichtigkeit gerade dieses Unterscheidungsmomentes gegenüber morphologisch ähnlichen Organismen bei dieser Gelegenheit im folgenden Schema veranschaulicht.



a b c d

Textfigur A.

1. Das am häufigsten zu beobachtende Bild zeigt uns die Spirochäte in Form regelmäßiger spiraliger Windungen von gleicher Länge und Tiefe (s. Fig. A, a). Die Bewegung erfolgt dann in schraubenförmiger Weise nach vor- oder rückwärts, wobei die Schraube ihre starre Form behalten kann. Es findet außerdem eine wellenförmige über den ganzen Körper in beiden Längsrichtungen verlaufende Bewegung statt, die besonders deutlich wird, wenn die Spirochäte sich nicht von der Stelle bewegt.

2. Der Körper besitzt weiter die Fähigkeit, sich bei sehr lebhaftem Vorwärtsgleiten auszustrecken, wobei die Zahl der Windungen verringert werden kann, und die Tiefe der Windung abnimmt, eine Bewegung, wie man sie am besten mit dem Dehnen einer Spiralfeder vergleichen kann (s. Fig. A, b).

3. Ebenso wie eine Verlängerung kann auch eine Verkürzung der Windungen bis zur engen Schraubenform beobachtet werden, am besten wiederum mit dem Zusammenschnellen einer Spiralfeder zu vergleichen (s. Fig. A, c).

4. Sehr charakteristisch ist der in Fig. A, d festgelegte Bewegungsvorgang, ein Beweis für die außerordentliche Flexibilität der Spirochäte. Der Körper biegt sich plötzlich unter Ausgleich sämtlicher Windungen zu einem geschlossenen Kreise zusammen und schnellt dann mit großer Vehemenz wieder zur alten Form zurück. Besonders scheint dies der Fall zu sein, wenn das eine Ende des Individuums durch irgendein Hindernis, z. B. ein Gewebsfäserchen fixiert ist. Man sieht dann auch peitschenartige Bewegungen mit dem freien Ende, die an die Geißelbewegungen der Flagellaten erinnern. Ausführlich hat derartige Bewegungsvorgänge von Prowazek (2) für die Hühnerspirochäten beschrieben.

Unter dem Deckglas in dem mitsamt den Larven entnommenen Wasser, in Leitungswasser oder physiologischer Kochsalzlösung aufgehoben, behalten die Spirochäten 2—3 Stunden ihre gute Beweglichkeit. Tritt eine Verlangsamung oder vollkommene Ruhe der Bewegungen ein, so ist ihre Form leicht als nicht cylindrisch, sondern deutlich bandartig, nach den Enden zu sich verjüngend zu erkennen. Eine schärfere Konturierung der einen oder anderen Kante dieses Bandes ist nicht zu bemerken, auch deutet nichts auf die Anwesenheit irgendwelcher geißelförmiger Bewegungsorgane hin. Der Körper erscheint schwach lichtbrechend, gleichmäßig hell ohne jede Körnelung. Eine solche wird mitunter vorgetäuscht, wenn durch größere Windungstiefe einer aufrechtstehenden, d. h. mit der Achse des Mikroskops

zusammenfallendeu Windung an dieser Stelle eine stärkere Lichtzerstrenung hervorgerufen wird. Es erscheint dann ein dunkler Fleck in heller Umgebung. Dieser Irrtum aber klärt sich bei Bewegungeu des Körpers und beim Verschieben des Tnbus leicht auf. Vitale Färbung mit wässeriger Methyleublau- und Brillantkresylblanlösnng ergab keinerlei Aufschluß über feinere Strukturverhältnisse.

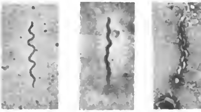
Durch Kalilauge (1proz.) gelang es die Spirochäten vollkommeu aufznlöseu, ein dentliches Unterscheidungsmerkmal gegenüber den unlöslicheu Spirillen. Destilliertes Wasser bewirkte schuelleu Bewegungsstillstaud und Undeutlichwerden der Kontnren. Konzeutrierte Kochsalzlösung (4 proz.) brachte keinen merklichen Einfluß hervor.

Die Anfertigung der gefärbten Deckglaspräparate erfolgte einmal dnrch einfaches Antrocknen mit folgender Alkoholfixierung für die Giemsafärbung, anßerdem durch Fixierung mit Osminmsäure. Wesentliche Unterschiede ergaben sich hierbei nicht. Auch war es gleichgültig, ob die Präparate vorher in dem aus den betreffendeu Fundorten stammenden Wasser, in Leitungswasser oder physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt worden waren. Die gefärbten Präparate zeigen sämtliche der oben beschriebeneu Bewegungsphaseu, teils ganz regelmäßige Windnngen in der Zahl schwankend zwischeu zwei (Fig. 5) uud sechs (Fig. 17), teils lang ausgezogene abwechselnd mit eugereu Windnugen. Es finden sich bogenförmige winklig geknickte ganz zusammengerollte Individnen (Fig. 9), kurz es bietet sich das Bild mannigfachster Bewegungsformen.

Die Giemsafärbnng ergibt meist eine gleichmäßig violett-rötliche Tingierung des ganzeu Körpers. Manchmal aber sind Lücken (Fig. 3) innerhalb des sonst gleichmäßig gefärbten Protoplasmas zu sehen. Das gleiche Bild tritt uns auch in den mit Eiseuhämatoxylin nach Heidenhain behandelten Präparaten entgegen. Diese hellen Stellen mit undeutlicher Begrenzung, die schon häufig beobachtet wurden, entbehren noch der Erklärung. In neuerer Zeit beschrieb sie Zettnow (3) für die Rekurrenspirochäten nnd erklärte sie als Querteilungsbilder. Sie als solche aufzufassen gaben unsere Präparate keine Möglichkeit.

Eine deutliche Trennung des Spirochätenleibes in zwei verschieden gefärbte Substanzen, etwa wie bei den Trypanosomeu in Kernsubstanz und Plasmaleib, ist nicht möglich; wohl aber boten einige Exemplare in verschieden behandelten Präparaten eine durch stärkereu resp. schwächeren Farbenton ausgezeichnete Differenzierung ihrer Körperelemente dar. Die Giemsapräparate einerseits zeigen in

vielen Exemplaren das Vorhandensein stärker gefärbter Körnchen (Fig. 2, Fig. 6) innerhalb des sonst gleichmäßig hellen Protoplasmas. Deutlicher aber wird eine Innenstruktur kenntlich in den mit Zettnow's Geißelfärbung behandelten Präparaten (Fig. 8) Fig. B2. An Stellen des Präparates, wo durch Zufall eine nur schwache Ablagerung von Silbersalzen stattgefunden hat, scheint die Spirochäte gelblichgrau-durchsichtig von zahlreichen unregelmäßig angeordneten verschieden großen Körnchen erfüllt (Fig. 8 und Fig. B2). An anderen Stellen desselben Präparates imponiert sie infolge stärkerer Imprägnation mit Silbersalz als bedeutend breiteres schwarzgefärbtes Gebilde (Fig. 10—13). Geißeln konnten weder in diesen, noch in anderen nach der Löffler'schen Methode behandelten Präparaten zur Darstellung gebracht werden.



1 2 3

Textfigur B.

Die Differenzierung des Spirochätenkörpers in zwei verschiedene Substanzen zeigen ganz besonders schön solche Präparate, die nach Prowazek's (1) Anweisung zur Darstellung der undulierenden Membran durch Eintrocknen in einem Tropfen destillierten Wasser und Färbung nach der Löffler'schen Geißelmethode hergestellt waren und in Fig. 17—20 und Textfig. B abgebildet sind. Die einzelnen Stadien des durch die Einwirkung des destillierten Wassers bewirkten Quellungs- und Mazerationsprozesses treten hier vortrefflich in die Erscheinung. Das vom Rande des Präparates, wo das Wasser schnell verdunstete, also am kürzesten einwirkte, stammende, auf ganz reinem Untergrunde liegende Individuum zeigt einen stark gefärbten axialen Teil gleichmäßig umgeben von einem hellen Saum (Fig. 17) Fig. B2. Die Abbildung 18 resp. Fig. B3 ist den mittleren Partien desselben Präparates entnommen; sie zeigt einen starkgefärbten Faden spiralig umgeben von einem vollkommen ungefärbten regelmäßig konturierten Hofe. Hier in der Mitte war die Einwirkung des Wassers von

längerer Dauer und hat so den in Fig. 17 und Fig. B 2 zur Darstellung gebrachten gequollenen Saum zur gänzlichen Auflösung gebracht. Oder — auch diese Erklärung ist plausibel — der anfänglich gequollene Saum hat unter der längeren Einwirkung des Wassers Zeit gefunden, sich wieder auf den axialen Faden hin zusammenzuziehen, während der in Fig. 17 dargestellte Saum infolge schnellerer Verdunstung des Wassers am Rande noch im Zustande der Quellung antrocknete. Das Extrem eines solchen Mazerationsvorganges zeigt Fig. 20. Hier ist der starkgefärbte Faden von ganz geringer Breite. Es haften ihm nur noch wenige Reste einer schwach rötlichgefärbten Substanz an. Die zur Färbung verwandte Beize hatte hier einen Zusatz von 1 proz. Natronlauge erhalten.

Wie man nun diesen stark gefärbten Faden auffassen will, ob man ihn als axialen Kernfaden bezeichnet, wie er ähnlich von Perrin (4) bei der *Spirochaeta balbianii* beschrieben wurde, ob man ihn genetisch dem Randfaden der undulierenden Membran der Trypanosomen gleichstellt, ob man ferner den in Fig. 17 abgebildeten Saum Ektoplasma oder Periplast nennen will, ganz zweifellos erhellt aus diesen Bildern, daß die Spirochäte aus zwei verschiedenen Elementen bestehen muß, einem schwer quellbaren und einem diesem anhaftenden oder es umgebenden leicht quellbaren.

Auch ein Giemsapräparat zeigte diese Verhältnisse (Fig. 7). Es stammt aus einem Wassertropfen, in den eine Larve zwecks Erkundung des Schicksals der Spirochäten nach Verlassen des Larvenkörpers 24 Stunden vorher eingebracht worden war. Im frischen Präparat erschienen die Spirochäten abgestorben. In diesem Zustande waren sie der Einwirkung des Wassers wohl schon längere Zeit ausgesetzt gewesen. Auch hier also hatte ein Quellungsvorgang stattgefunden, der sich in dem Auftreten eines hell tingierten Saumes an zwei Stellen des dunkler gefärbten Individuums bemerkbar macht.

Über die Art der Fortpflanzung konnten die bisher gesehenen Bilder keine vollkommene Klarheit geben. Andeutungen einer Querteilung fanden sich niemals. Nur eine einzige Abbildung läßt die Deutung einer beginnenden Längsteilung zu (Fig. 6). Das in seinem Dickendurchmesser bis auf 1 μ verbreiterte Individuum — der gewöhnliche Dickendurchmesser beträgt $^1/_2$ μ — zeigt deutlich die stärker gefärbten Ränder, vermutlich die sich zur Teilung anschickenden neuen Individuen. Es macht den Eindruck, als ob der Spirochätenkörper sich teilt, etwa wie man eine Schnur auseinanderfasern würde. Besonders schön tritt an diesem Bilde das

Vorhandensein von stärker gefärbten Körnchen in die Erscheinung, die an zwei sich genau entsprechenden gegenüberliegenden Stellen gelegen sind. Die Seltenheit eines solchen Befundes spricht wohl dafür, daß eine solche Teilung mit großer Schnelligkeit vor sich gehen muß.

Die Spirochäten, die in den frisch vom Fundort entnommenen Larven in Menge anzutreffen waren, wurden, je länger diese im Laboratorium aufgehoben wurden, desto spärlicher, um schließlich ganz aus ihnen zu verschwinden. Daß sie in das umgebende Wasser ausgeschieden werden und dort rasch zugrunde gehen, lehrt der oben geschilderte Versuch. Daß das Wasser nicht ihr eigentliches Lebenselement ist, beweist wohl auch die Tatsache, daß sie trotz des überaus zahlreichen Vorkommens im Darm der in diesem Wasser lebenden Larve in dem Wasser selbst niemals gefunden werden konnten. Untersuchungen von *Culex*-Puppen, sowohl solchen, die frisch aus der Cysterne entnommen wurden, als auch solchen, die sich im Laboratorium entwickelten, hatten ein negatives Resultat. Daß aber auch Puppen die Wirte der Spirochäte sein müssen, dafür sprach das Auffinden dieser Organismen in den Malpighi'schen Gefäßen einer im Institutsgarten gefangenen Mücke, der einzigen von etwa 100 von verschiedenen Orten stammenden untersuchten Mücken, die einen derartigen Befund aufwies. Ein zweiter derartiger Fall kam durch die Freundlichkeit des Herrn Stabsarzt Mühlens zu meiner Kenntnis, der gelegentlich der Präparation einer Mücke dieselben Spirochäten gefunden hatte. Es ist somit sicher, daß ein Übergang der Spirochäte aus der Larve in die Puppe und von dort in die Mücke stattfinden kann. Ob sie wieder auf die Eier der Mücke übertragen werden und damit ihr Vorkommen in den Larven zu erklären ist, ein Vorgang, wie er von R. Koch für die Erreger des Rekurrens bei der Zecke nachgewiesen wurde, bleibt weiteren Untersuchungen zu günstigerer Jahreszeit vorbehalten.

Literaturverzeichnis.

1) Mühlens u. Hartmann: Über Bacillus fusiformis und Spirochaeta dentium. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1906 Bd. 55.

2) Prowazek, v.: Morphologische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über Hühnerspirochäten. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 23.

3) Zettnow: Färbung und Teilung bei Spirochäten. Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Bd. 52 1906.
4) Perrin: Researches upon the Life-history of Trypanosoma balbianii (Certes). Arch. f. Protistenk. Bd. 3 H. 1 1906.

Tafelerklärung.

Die Zeichnungen sind sämtlich mit Zeiss' Obj. Apochr. 2 mm und dem Com. Oc. 18 mit dem Abbé'schen Zeichenapparat in Objekttischhöhe entworfen. Vergr. ca. 2500.

Fig. 1—7. *Spirochaeta culicis*, Färbung nach Giemsa.

Fig. 8—13. do., Geißelfärbung nach Zettnow.

Fig. 14—16. do., Geißelfärbung nach Löffler.

Fig. 10—20. do., Geißelfärbung nach Löffler, nach vorheriger Mazeration mit destilliertem Wasser.

Notes sur quelques Flagellés.[1]

Par

H. Schouteden (Bruxelles).

(Avec 11 figures dans le texte.)

1. *Dimorpha mutans* Gruber.

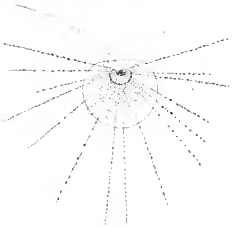


Fig. 1. *Dimorpha mutans.* — Réd. $^5/_6$.

Le *Dimorpha mutans* décrit par Gruber semble compter parmi les Flagellés les moins répandus; on ne le trouve que rarement cité et en général les exemplaires en sont peu nombreux dans les cultures. Blochmann, je pense, est le seul qui ait pu étudier jusqu'ici de

[1]) Notes sur les Organismes inférieurs. 4e note.

façon convenable cet organisme curieux, à la fois Héliozoaire et Flagellate, et dans son travail „Zur Kenntnis von *Dimorpha mutans* Grub.“ (Biol. Centralbl. XIV p. 197, 1894) il a pu nous donner sur lui des détails fort intéressants, sans toutefois réussir à élucider certains points encore obscurs, les *Dimorpha* n'ayant persisté que quatre jours dans ses flacons.

Examinant au début de novembre, l'an dernier, un liquide provenant du Jardin Botanique de Bruxelles et qui renfermait en quantités énormes *Trachelomonas volvocina, Tr. lagenella,* etc., ainsi que mon *Chlamydomonas Willei*, j'eus le bonheur de rencontrer dans une préparation un exemplaire du fameux *Dimorpha*. Puis j'en rencontrai d'autres encore, et en nombre suffisant pour pouvoir faire une étude un peu plus approfondie de sa structure.

L'organisme était relativement assez abondant dans la culture. Pour me le procurer il me suffisait de prélever avec une pipette un peu du dépôt qui se formait au fond du flacon et qui consistait surtout en ramifications d'*Anthophysa*, aisément reconnaissable à l'œil nu à l'aspect bien connu des amas de rameaux brunâtres. Parmi ces rameaux j'étais certain de rencontrer toujours plusieurs *Dimorpha* que je pouvais facilement étudier simultanément. Par contre, dans le liquide même je n'en rencontrai pas flottant à la façon d'un Héliozoaire libre.

On pouvait se demander pourquoi les *Dimorpha* se trouvaient toujours parmi les tiges d'*Anthophysa* et n'en étaient pas séparés par les heurts du transport en pipette? Cette question a une réponse fort simple, comme on le verra plus loin: les *Dimorpha* ne sont pas des organismes vivant librement, ils se fixent à un support!

Il est rare que la forme du *Dimorpha* soit sphérique. D'habitude il présente plutôt une forme légèrement allongée transversalement (si l'on oriente vers le haut la face qui porte les flagels); de plus on constate fréquemment que le côté où naissent les flagels est moins convexe que celui qui lui est opposé et qui ne porte que des pseudopodes.

Ceux-ci peuvent irradier tout autour de l'organisme, hérissant toute sa surface, mais il n'est pas rare non plus de trouver des exemplaires chez lesquels les pseudopodes sont plus rares ou même manquent complètement dans la région avoisinant les flagels. Ils sont en nombre variable, sans jamais être serrés, et sont assez régulièrement espacés entre eux. Leur longueur varie également mais ne dépasse pas une fois et demie le diamètre du corps; leur aspect est, comme on sait, ceux des pseudopodes d'Héliozoaires, avec

un fil axial fort net, des granules superficiels. Ils ne sont pas motiles in toto mais peuvent se courber néanmoins, ce qni ne s'observe d'ailleurs que fort rarement. Enfin, ils peuvent, comme on l'a déjà décrit, être résorbés par l'organisme, ne faisant plus, ou plns guère, saillie à la surface du corps.

Les flagels sont au nombre de deux, mesurant d'une et demie à deux fois le diamètre du corps, assez fins. Ces deux flagels n'ont pas d'habitude un rôle identique, comme on semble l'avoir admis jusqu'ici et comme je l'avais d'ailleurs pensé d'abord. En effet, si dans la préparation que l'on étudie on provoque au sein du liquide un courant même violent, entraînant toutes les particules, tous les organismes libres qu'il renferme, on s'aperçoit que les *Dimorpha* ne sont pas emportés; ou plutôt ils sont entraînés sur un conrt espace puis s'arrêtent malgré le courant. On a alors exactement l'impression qne l'on aurait eu plaçant dans un courant d'eau un flotteur que l'on retient à l'aide d'une corde; le flotteur tend à suivre le courant mais il est retenu par la corde. De même on voit le *Dimorpha* rester en place, ballotté de temps à autre à droite ou à gauche par les déviations du courant, heurté par les corps que celui entraîne. Une observation attentive fait aisément découvrir que si l'organisme résiste si bien, c'est qu'il est „ancré“ à l'aide de l'un de ses flagels, fixé soit à la lame soit à un support quelconque: lorsque le courant a commencé à passer, l'organisme n'a été entraîné qne sur un court espace, juste la longueur de son lien d'attache, et celui-ci, tendu complètement, l'empêche dorénavant d'être emporté plus loin. .... Le fait de la fixation étant ainsi découvert, il était aisé d'en faire la vérification sur des individus quelconques, pris an hasard: toujours je les tronvai fixés par l'un des flagels, tandis que l'autre seul battait. Par là s'expliqne, on le voit, fort aisément, le fait que j'étais toujours assuré de rencontrer des *Dimorpha* dans mes préparations lorsque j'avais soin de déposer dans celle-ci quelques tiges d'*Anthophysa* prises dans le flacon: ces tiges servaient aux *Dimorpha* de support, de lieu de fixation, ... et de plus les individus d'*Anthophysa* devenaient fréquemment leur proie!

Le flagel jouant le rôle d'ancre s'attache au support par son extrémité ou tout près de celle-ci; la fixation est fort solide, cela ressort clairement de la façon dont l'organisme résiste à des courants même assez forts. A l'état habituel ce flagel n'est pas tendu; il est ondulé, courbé, ne différant pas d'aspect à première vne du flagel actif, d'autant plus qu'on le voit parfois présenter également quelques mouvements, d'ailleurs peu prononcés. C'est ainsi que s'explique tout

naturellement le fait qu'on ne se soit pas aperçu plus tôt que l'un des flagels que l'on observait était fixé. Ce flagel ne diffère pas autrement du flagel libre; je n'ai pu malheureusement m'assurer si les deux flagels peuvent tous deux indifféremment servir à la fixation ou avoir un rôle actif, mais tout me porte à croire qu'il en est ainsi.

Le flagel libre bat dans le liquide, mais ses mouvements ne sont pas fort actifs; le plus souvent il bat lentement et ce n'est que de temps à autre qu'il donne quelques coups plus rapides. Il donne l'impression d'être assez raide et moins souple qu'un flagel de Flagellate ordinaire.

Les pseudopodes sont des pseudopodes typiques d'Héliozoaire, à fil axial bien distinct, à revêtement plasmatique peu épais, avec des granules réfringents fort nets: cela à l'état d'extension. A la base des pseudopodes on voit souvent le plasma se soulever en un petit cône d'insertion. Lorsque l'organisme, pour l'une ou l'autre cause, a retiré ses pseudopodes et qu'il les développe à nouveau, on les voit apparaître d'abord comme une simple saillie puis s'allonger peu-à-peu; lorsqu'ils sont courts encore, ils sont couverts de grosses perles de protoplasme, comme on en voit également chez quelques Héliozoaires à l'état normal; mais à mesure que le pseudopode s'allonge, il reprend son aspect habituel, les perles se fondent et disparaissent, et finalement l'organisme a repris sa structure première.

Comme Blochmann l'indique, on voit nettement les fils axiaux des pseusopodes se continuer à travers corps du *Dimorpha* et converger vers un même point brillant, dont nous parlerons plus loin. Lorsque les pseudopodes ont été résorbés, les fils persistent dans le corps de l'organisme, aussi nets toujours.

Les pseudopodes du *Dimorpha* ont les mêmes propriétés que ceux des Héliozoaires. Il n'était pas rare dans mes préparations de voir de petits Flagellates incolores, des *Monas* ou des individus libérés d'*Anthophysa* venir se heurter aux pseudopodes et devenir la proie de l'organisme. Au contraire, les *Trachelomonas* qui étaient si abondants dans ma culture ne semblaient guère avoir à redouter les *Dimorpha*: leur coque les protégeait contre ses atteintes; et si, comme cela se voyait parfois, un *Trachelomonas* venait étourdiment se jeter sur les pseudopodes et si son flagel, fort long comme on le sait, était saisi par ceux-ci, on voyait le Flagellate faire le sacrifice de son flagel et échapper ainsi à son ennemi. Par contre un joli *Chlamydomonas* qui se trouvait dans la même culture (*Chl. Willei* m.) ne réussissait pas toujours à s'échapper et assez souvent on le reconnaissait dans le corps du *Dimorpha*.

Le plasma est assez compact, de teinte pâle, bleuâtre légèrement, un peu brillant. Il renferme d'assez nombreux granules brillants et réfringents, de coloration jaunâtre ou verdâtre pâle, qui le plus souvent ne s'étendent pas jusqu'au bord mais laissent libre une large zone marginale. Et le plus généralement on ne les observe pas du côté où s'insèrent les flagels: ils entourent donc le noyau sauf de ce côté. Le noyau est d'ailleurs excentrique.

Le nombre des vacuoles pulsatiles est variable, mais il y en a toujours plus de deux; elles sont semées sans ordre fixe dans le plasma et viennent crever à la surface en divers points du corps. En général on en observe une demie douzaine, dont les pulsations se font toutes les 25 secondes environ, régulièrement. Elles reparaissent à l'endroit même où elles ont disparu. Les vacuoles sont habituellement petites mais parfois aussi elles peuvent devenir assez volumineuses, leur diamètre égalant jusqu'à la moitié de celui du noyau.

Les déchets de la nutrition sont expulsés dans des vacuoles qui viennent crever à la surface du plasma. Comme je l'ai dit, les *Dimorpha* que j'ai étudiés se nourrissaient principalement de petits Flagellés.

La structure du noyau est fort intéressante. Blochmann seul a pu l'étudier de façon assez satisfaisante et il en a donné une description assez complète; mais il n'a pu, les *Dimorpha* ayant disparu de sa culture, élucider certains détails curieux qu'il indique. Ayant eu la chance de pouvoir observer l'organisme durant un temps plus long, j'ai eu soin d'étudier son appareil nucléaire et de tenter de déterminer de façon plus précise sa structure.

Le noyau est déjà visible sur le vivant, plus ou moins nettement suivant les individus. Mais il est aisé à mettre en évidence en tuant l'organisme par une solution d'acide picrique, qui colore le noyau en jaune. On constate alors que la chromatine est rassemblée en une masse épaisse qui en coupe optique apparait comme un croissant à pointes plus ou moins fortement arrondies et obtuses: en réalité, comme l'observation le fait constater, elle constitue une sorte d'hémisphère (ou segment de sphère plus petit ou aussi plus grand parfois) creux mais à paroi fortement épaissie.

A l'intérieur de cette masse, dans la cavité qu'elle entoure, on voit les axes des pseudopodes, qui traversent le corps, converger en un même point, vers un granule brillant fort net, visible déjà sur le vivant, d'ailleurs, avec un peu d'attention. Et de plus en ce

même point se trouve l'insertion des deux flagels, qui à partir de cette insertion commune au sein du plasma divergent entre eux et sortent du corps en deux points nettement séparés et bien fixes: c'est-à-dire que même lorsqu'un des flagels s'agite vivement, son insertion sur le corps ne se déplace pas et la portion intraplasmatique reste rigide. De même les axes des pseudopodes, nous l'avons dit, subsistent toujours à l'intérieur du plasma, et toujours on voit leurs bases converger vers le granule réfringent en question, qu'a déjà signalé Blochmann, et qui correspond sans aucun doute au Centralkorn des Héliozoaires.

Blochmann est resté assez perplexe devant le fait que les fils axiaux des pseudopodes convergent ainsi à travers le noyau vers un point commun. Il lui parait peu probable qu'il y ait là un axe continu qui percerait la substance nucléaire.

Et cependant il résulte de mes observations que c'est bien ainsi que doit s'interpréter la structure de l'appareil compliqué de *Dimorpha*. Les fils axiaux que l'on voit converger au sein du plasma traversent complètement la masse chromatique, la trouent — pour m'exprimer plus nettement — et néanmoins ils sont absolument continus et homogènes. On arrive parfois par une coloration appropriée à constater nettement qu'à travers la chromatine les rayons sont absolument réguliers: cet aspect est représenté sur la figure 1, qu'il est superflu de décrire plus longuement. Tout autour de la masse chromatique nucléaire on observe, comme l'a indiqué Blochmann une sorte d'espace vide étroit. Il s'agit là d'un espace séparant la masse chromatique de la membrane nucléaire.

Le corpuscule brillant vers lequel convergent les filaments axiaux n'est pas toujours appliqué contre la masse chromatique, dans la concavité de la coupe ou calotte qu'elle forme; souvent on l'en voit un peu séparé. Sa position se détermine d'ailleurs aisément toujours d'après la direction des axes: en suivant ceux-ci on arrive nécessairement au Centralkorn. Et de même, mais ceci demande un peu plus d'attention, on constate que les flagels s'y insèrent également.

Le fait que les filaments axiaux des pseudopodes et les flagels partent tous du Centralkorn est fort intéressant, comme le remarque Blochmann, car il tend à appuyer l'opinion que flagels et pseudopodes sont au fond la même chose.

Il serait fort important de pouvoir étudier la division nucléaire de *Dimorpha* afin de déterminer le rôle que joue éventuellement le Centralkorn dans cette division.

Le regretté Fritz Schaudinn, on le sait, dans une de ses courtes

mais si intéressantes notes s'est occupé tout spécialement du Centralkorn des Héliozoaires. Dans cette note (Verh. Deutsch. zool. Ges., VI, p. 113), communication faite à Bonn à la Deutsch. zool. Ges. en la séance du 29 mai 1896, il tend à démontrer que le Centralkorn n'est pas autre chose qu'un centrosome. Et de fait il a pu étudier la division nucléaire chez quelques Héliozoaires et constater que dans cette division le Centralkorn joue le rôle d'un centrosome typique . . . Cela pour la division normale de l'Héliozoaire, tandis que dans les cas de bourgeonnement le noyau se divise par le procédé direct et sans intervention du corpuscule central. Dans le bourgeon celui-ci n'existe donc tout d'abord pas, et ce n'est que plus tard qu'on le voit apparaitre, au sein même du noyau, d'où il émigre ensuite dans le plasma.

Le Centralkorn de *Dimorpha* est-il également une sorte de centrosome? Sa similitude si complète avec celui des Héliozoaires le fait supposer . . . Mais ici se greffe une autre question: dans la division que deviennent alors les flagels?

Les recherches faites dans ces dernières années ont fait constater de façon générale chez les Flagellates que les flagels sont en rapport intime avec le noyau, — comme c'est d'ailleurs le cas déjà pour le *Mastigamœba pilosa* dont je parle dans ce travail. DANGEARD a soigneusement étudié le fait chez *Polytoma*: le flagel s'insère à la périphérie du corps sur un blépharoplaste, corpuscule fort petit qu'un fin tractus, ou rhizoplaste comme l'appelle DANGEARD, relie au noyau sur lequel il s'attache par un faible épaississement, ou condyle. Contrairement à ce que certains auteurs ont admis, et conformément aux vues de BÜTSCHLI et d'autres, DANGEARD rejette toute identité entre le blépharoplaste et un centrosome. L'analogie des flagels de *Dimorpha* avec ceux des Flagellates fait que l'on doit s'attendre à rencontrer ici le même mode d'insertion, la même union intime avec le noyau par l'intermédiaire d'un rhizoplaste. Et d'autre part on constate qu'ils s'insèrent sur le Centralkorn, véritable centrosome d'après SCHAUDINN . . .

Cette étude délicate eût été fort utile à faire et eut sans aucun doute donné des résultats intéressants, mais je n'eus pas le temps de la mener à bonne fin . . . Au bout de peu de jours en effet, comme chez BLOCHMANN, les *Dimorpha* disparurent de ma culture! Et depuis je n'ai encore pu retrouver l'organisme dans mes récoltes.

2. ***Mastigamœba pilosa*** (Cash).

Dans un travail paru il y a deux ans dans le Linnean Society's Journal, Zoology, Vol. XXIX p. 218, sous le titre „On some new and little-known British Freshwater Rhizopoda“, J. Cash donne la description, accompagnée d'une figure (pl. 26 fig. 8) d'un organisme fort curieux qu'il appelle *Amœba pilosa* sp. n. Voici ce qu'il en dit:

„Animal resembling an average-sized *A. villosa*, with the same pale-bluish or neutral-tinted finely granular endoplasm, and containing, as in that species, a variety of food-corpuscles, mostly green, together with refringent yellowish or brownish oil-like globules. Nucleus pale, situated in the anterior region; contractile vesicles one or more.

The posterior extremity is produced into a delicately fringed expansion of faintly granular ectoplasm, in which are usually one or two clear vacuoles, the external outline being irregular and occasionally lobate. Including this posterior expansion, the entire body of the animal is closely beset with rigid hair-like processes, or spicula, radiating outwards, and resembling those which clothe the membrauous test of *Cochliopodium vestitum*. This latter character distinguishes *A. pilosa* from all other forms of *Amœba*. Locomotion is effected by lobular expansions of the ectoplasm, anterior or lateral. As in *A. proteus* or *A. villosa*, the pseudopodia may originate at any point on the body-surface, but have never been observed to become digitate.

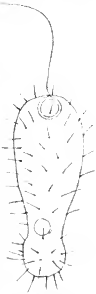


Fig 2.
Mastigamœba pilosa.
Réd. $^2/_3$.

Dimensions: length about 180 μ; average breadth 50 μ.

... It is difficult to explain either the origin of the spicula which invest the body of this *Amœba*, or their mode of attachment to the soft protoplasmic surface over which they are very evenly, and at the same time thickly, distributed. Immediately a pseudopodal lobe is formed, the cil-like processes flow over it from the surrounding surface.

... The Fearnhead examples presented some differences of habit, though agreeing in the pilose character. They were probably older individuals. The spicula were usually stouter and darker in colour;

the endoplasm was denser; the posterior appendage was absent, and the animal was more sluggish in its movements."

Cette même description a été reproduite, avec quelques changements insignifiants, dans le volume I des British Freshwater Rhizopoda de Cash, publié l'an dernier par la Ray Society de Londres (p. 62 pl. IV fig. 1—5).

Comme on peut le voir, cette description n'est guère détaillée et manque de détails sur certains des points les plus intéressants: insertion des spicules, motif de la localisation du noyau en région antérieure, etc. Il était donc vivement à désirer que l'étude de cet organisme peut-être reprise et complétée.

Etudiant l'an passé chez M. le Prof. Massart à Coxyde près Nieuport, sur la côte belge, les Protistes qui se rencontraient dans une mare située au milieu des dunes et dite „Mare-aux-Canards", je rencontrai un beau jour dans une préparation un organisme curieux qui me rappela immédiatement la figure publiée par Cash; l'aspect général et le mode de locomotion faisaient en effet songer à une amibe, mais une amibe toute couverte de sortes de soies raides, de spicules comme les appelle Cash.

Cet unique exemplaire fut malheureusement vite perdu, et je craignais déjà devoir renoncer à retrouver cette espèce énigmatique, lorsque dans l'un de mes flacons, contenant le sédiment du fond de la mare je la rencontrai à nouveau, en plusieurs exemplaires! Je m'empressai naturellement d'étudier l'organisme, qui m'intéressait surtout à trois points de vue:

En premier lieu, la localisation du noyau dans la région antérieure du corps de façon constante, persistant même durant la progression, était assez étonnante chez une amibe. En règle générale en effet chez les amibes le noyau se loge plutôt dans la région postérieure, et s'il est entrainé vers l'avant par le courant plasmatique, il ne tarde pas à être reporté vers l'arrière; ou si parfois il se maintient dans la région antérieure dans ce cas on le voit en quelque sorte être secoué sans cesse par le courant plasmatique qui le pousse vers l'avant: or ici le noyau est parfaitement fixe, immobile. Il était donc intéressant de déterminer le motif de cette localisation antérieure et aussi de cette immobilité (relative, comme nous le verrons) assez inattendue.

En second lieu, la structure des spicules demandait à être étudiée plus en détail que ne l'a fait Cash, et leur mode d'insertion devait être déterminé.

Enfin l'organisme présentait un intérêt tout spécial pour moi à un tout autre point de vue: au point de vue de la locomotion. On sait en effet que JENNINGS a émis, il y a quelques mois, une nouvelle théorie pour expliquer la progression des Amibes: elle se ferait par rotation de l'organisme sur lui-même et non pas par émission de plasma à l'avant, comme le décrit RHUMBLER par exemple, en suite d'une diminution locale de la tension superficielle. Comment se faisait la progression chez l'*A. pilosa* de CASH? S'il y avait réellement rotation, comme JENNINGS le croit — et comme j'ai déjà dit, dans un autre travail paru dans cette revue, ne pouvoir l'admettre, — il est de toute évidence que cette amibe était un type idéal pour le démontrer. En effet la surface en est couverte de spicules extrêmement faciles à suivre, et dans le cas d'une rotation de l'amibe *in toto* on devait aisément les voir se déplacer dans le même sens que tout l'organisme, et passer successivement à la face inférieure du corps. Ce point était donc fort intéressant puisqu'il permettait de trancher définitivement la question!

De plus la structure du noyau était à élucider, CASH ayant négligé de nous décrire cet organe, si important pour la détermination des epèces du genre *Amœba*.

A ces divers points de vue j'ai donc étudié les spécimens que j'ai pu découvrir et je suis arrivé ainsi à quelques résultats assez intéressants que je vais exposer.

Dans les premiers temps où j'observai l'*Amœba pilosa* je la voyais telle que CASH l'a décrite, progressant lentement à l'aide de pseudopodes lobés antérieurs. — Mais à d'autres moments on la voyait se détacher du support et, devenue libre dans le liquide, s'agiter irrégulièrement, tout en ne développant plus de pseudopodes. Comment expliquer ce mouvement? La question au premier abord paraissait assez embarrassante!

Mais lorsque j'eus trouvé de nouveaux spécimens de l'*Amœba* et qu'à l'aide de forts grossissements je commencai à l'étudier, j'eus bientôt le mot de l'énigme. Je ne tardai en effet pas à m'apercevoir que l'organisme possédait un long flagel, et lorsqu'il se détachait du support il se déplaçait tout simplement grâce aux battements de ce flagel! L'*Amœba pilosa* de CASH était en réalité un *Mastigamœba*! Dorénavant l'espèce devra être rangée dans ce dernier genre sous le nom de *M. pilosa* (CASH).

L'organisme peut donc se déplacer suivant deux modes différents: soit en rampant comme une Amibe, soit en nageant comme un

Flagellate. J'examinerai plus loin plus en détail ces deux modes de locomotion.

Le flagel de *M. pilosa* est un long filament, assez peu visible même au repos, dont la coupe n'est pas circulaire mais un peu aplatie; sa longueur égale environ deux tiers de la longueur de l'organisme (à l'état de reptation normale, dans un sens donné). Il est toujours antérieur, même durant la progression amiboïde, durant laquelle il est simplement un peu reporté sur le côté. Au repos il est rare qu'il soit complètement immobile: en règle générale il se meut toujours faiblement, nonchalament pourrait-on dire, effectuant des ondulations peu marquées. Lorsque l'organisme passe à la natation, au contraire, le flagel bat avec force et ce sont ses battements qui impriment au *Mastigamœba* ces secousses qui m'avaient intrigué lorsque je commencai à l'observer. La natation est d'ailleurs irrégulière et peu rapide, et bientôt elle fait à nouveau place à la reptation, qui semble le mode préféré de progression de l'organisme.

Il était tout indiqué de tâcher de découvrir le mode d'insertion du flagel dans le corps, de rechercher la cause de sa localisation antérieure persistante. Et bientôt je découvris à la fois la raison de cette localisation et celle de la localisation identique du noyau: le flagel se continuait en effet directement avec celui-ci, son point d'insertion représentant une sorte de petit cône saillant à la surface de la membrane nucléaire. Par suite il était évident que le flagel devait suivre tous les déplacements du noyau, et vice-versa naturellement!

Cette union directe du flagel et du noyau est chose fort intéressante, quoique ce ne soit pas la première fois qu'on l'indique chez un *Mastigamœba* même. Dans le cas actuel elle est extrêmement nette et ne peut laisser aucun doute dans l'esprit le plus sceptique. J'ai dessiné à la chambre claire d'Abbe (obj. imm. Zeiss $^1/_{12}$, ocul. apochr. 12) le noyau et la base du flagel d'un *Mastigamœba pilosa*, que je reproduis ici: le spécimen avait été fixé par IKI, avec coloration nette du noyau par ce réactif. Sur cette figure on voit également quelle est la structure du noyau: c'est une vésicule assez volumineuse, subsphérique, présentant une grosse masse chromatique interne sphérique entouré d'une large zone de nucléoplasme limitée en dehors par une membrane nucléaire fort nette. C'est celle-ci qui se continue en un point avec le flagel, comme je l'ai dit plus haut, formant à sa base un petit cône d'insertion net. Entre la base du flagel, c'est-à-dire son insertion sur la membrane nucléaire et la masse chromatique interne je n'ai pu percevoir un lien: mais je

dois ajonter que je n'ai pu faire agir sur l'organisme les réactifs colorants nécessaires ponr mettre éventuellement mieux en évidence un tel lieu.

Pnisqu'ils sont intimement nnis et forment complexe nniqne, il est clair qne flagel et noyau ne pourront qne se déplacer simultanément, l'un suivant fatalement l'autre. Mais cela ne nous expliqne encore pourquoi durant la reptation le noyan et le flagel — dont l'nn est interne et l'antre externe par rapport au corps — restent localisés à l'avant, alors qu'on s'attendrait alors à les voir reportés en arrière, comme c'est le cas chez d'antres *Mastigamœba*. A priori il y avait tout lieu de supposer qu'il y avait là nn obstacle empêchant le déplacement du complexe noyau-flagel, les immobilisant à l'avant. Et cette supposition était bien exacte et se vérifie aisément sous les forts grossissements que j'ai employés.

Mastigamœba pilosa possède en effet une cnticule fort nette sous nn fort grossissement et paraissant assez résistante, et c'est la présence de cette cuticule superficielle qni immobilise le flagel, et par conséqnent aussi le noyau, eu un point donné et les maintient à l'avant. Lorsque l'organisme, rampant, émet nu pseudopode antérienr, comme une amibe, on voit se prodnire les mêmes phéuomène que Rhumbler a décrit chez *Amœba limicola* (à part que la cnticnle est moins résistante). Au point où est émis le pseudopode la cuticnle disparaît, elle se troue largement si l'on peut s'exprimer ainsi et livre ainsi passage au plasma fluide qui passe au dehors et recouvre anssi la zone externe voisine du point qni a cédé. Un conrt instant on voit la cnticule persister, là où elle est recouvert par le plasma, pnis elle s'efface, cependant qu'nne cuticnle nouvelle se différencie sur la surface externe nouvelle. Le phénomène est aisé à observer, les pseudopodes étant conrts et l'émissiou de plasma ne se faisant pas de façon continue dans nn même sens mais par jets en quelque sorte, comme chez *A. limicola*.

Comme je l'ai dit, les pseudopodes se forment généralement à l'avant, plutôt nn peu latéralement, c'est-à-dire à côté du flagel. Or nous venons de voir que durant nn instant la cuticnle subsiste sur la surface voisine du point d'émission puis se dissout. On voit donc le flagel cesser d'être antérieur — le psendopode passant à l'avant, — puis brusquement, lorsqne disparaît la cuticule qni le retenait, le complexe flagel-noyau est reporté antérieurement, évidemment entraîné par le courant plasmatique; et le même phénomène se reproduit tant que dure la progression amiboïde. Latéralement et en arrière la cuticule subsiste au contraire bien uette. — Lorsque

l'organisme cesse de ramper, elle se reforme assez rapidement là où elle avait été résorbée.

Le plasma interne est assez fluide, comme on peut facilement le constater, les granulations qu'il renferme étant entraînées rapidement par le courant protoplasmique et se déplaçant aisément. Il a une très légère teinte bleuâtre, grisâtre aussi, et renferme d'assez nombreux granules jaunâtres — correspondant évidemment à ceux que Cash appelle „oil-like" — et qui sont sans nul doute identiques à ceux que l'on rencontre habituellement dans les Amibes, produits de désassimilation probablement. En outre, le plasma présente de fines granulations fort abondantes mais peu visibles, qui contribuent vraisemblablement à lui donner sa coloration.

Les individus que j'ai pu étudier ne renfermaient en règle générale que de rares vacuoles alimentaires, dans lesquelles on reconnaissait des Algues à un stade plus ou moins avancé d'assimilation. Je n'ai pas assisté à la capture d'une Algue par l'organisme. Mais je l'ai vu entourer complètement sur une certaine longueur, s'étirant alors parfois de façon considérable (jusqu'à atteindre trois fois sa longueur normale), de longs filaments non nutritifs qui se rencontraient dans la préparation; l'organisme formait en quelque sorte manchon autour du filament qui le traversait de part en part . . .

Le corps renferme une vacuole contractile de taille moyenne, entraînée par le plasma, et qui semble avoir une tendance à rester dans les régions antérieures; elle pulse à intervalles assez espacés. En outre on en rencontre souvent une deuxième se développant déjà alors que la première n'a pas encore disparu. Le plasma renferme de plus quelques vacuoles non contractiles de petite taille.

Durant la reptation l'organisme offre antérieurement une zone hyaline pas fort large, bien nette, formée par les pseudopodes qui s'étalent; durant la natation cette zone disparaît, en même temps que la cuticule redevient complète. A l'arrière il y a une queue peu développée mais cependant bien différenciée, se présentant sous forme d'un amas irrégulier plus dense, de largeur un peu supérieure à celle du corps en avant d'elle; on y rencontre fréquemment des vacuoles renferment des résidus alimentaires ou des loges de Diatomées, etc. Je n'ai pu assister à la défécation.

Tout le corps est couvert de ce que Cash appelle des spicules, nom qu'on peut conserver à la rigueur bien que prêtant peut-être à confusion. Ce sont des sortes de soies, d'épines raides, assez fines, implantées à la surface du corps, tant à l'avant et sur la queue

que sur le reste de l'organisme durant la natation; ils sont plus ou moins abondants (la figure n'en montre qu'un petit nombre). Durant la reptation la surface adhérant au substrat de même que les pseudopodes servant actuellement à la progression ne présentent pas de spicules, mais dès que les pseudopodes passent au second rang ceux-ci viennent les couvrir également, voici de quelle façon. Les spicules ont une structure curieuse: ce sont des épines droites, rigides, allant en s'amincissant graduellement vers l'apex, et qui à la base se terminent par une sorte de corpuscule arrondi, de même largeur qu'elles à peu près mais subsphériques. L'épine est implantée dans la cuticule dont nous avons parlé, mais la base arrondie se trouve immédiatement sous celle-ci: la cuticule n'englobe donc pas la base même du spicule, mais par suite de sa rigidité le maintient néanmoins. Lorsqu'un pseudopode se forme à l'avant, nous avons indiqué plus haut ce qui se passe: la cuticule voisine du point de formation du pseudopode et qui est recouverte par celui-ci se conserve d'abord intacte, retenant donc les spicules en place; puis elle est résorbée et met alors brusquement en liberté ces derniers. On les voit être entraînés vers l'avant actuel par le plasma, qui n'englobe que leur base. Et comme nous l'avons vu, la cuticule se reforme bientôt à la partie antérieure, fixant donc de nouveau les spicules. — Dans certains individus, plus jeunes sans doute, les épines sont incolores, pâles, tandis qu'ailleurs ils prennent une teinte sombre, brunâtre, comme Cash le signale pour les exemplaires qu'il a recueillis à Fearnhead. — Sur la queue les spicules sont plus serrés d'habitude et en coupe optique constituent une sorte d'auréole.

Comme on a déjà pu le constater par ce que j'ai dit de la fixité du flagel et des épines, fixité due à la présence d'une cuticule, la réponse à la troisième question que je m'étais posée est tout indiquée. L'organisme ne roule pas sur lui-même comme Jennings a cru devoir l'admettre pour les Amibes qu'il a observées. On peut facilement suivre pendant un certain temps l'un des spicules, et jamais on ne le voit se déplacer graduellement vers l'avant puis passer à la face inférieure du corps, comme on peut parfois le voir en suivant un corpuscule étranger adhérant à la surface de certaines Amibes. Et de même la position du flagel reste fixe, on ne le voit pas se déplacer autour du corps. Or, je l'ai dit, flagel et spicules font en quelque sorte corps avec la pellicule dans laquelle ils sont „enchassés", et si cette cuticule présentait un mouvement de rotation, ils devraient fatalement en faire de même. C'était la démonstration la plus idéale que l'on put concevoir. Or ce déplacement ne s'observe

pas, et l'on peut donc en toute sûreté conclure qu'il n'y a pas, de rotation de l'Amibe in toto. Cette observation suffit, ce me semble, à renverser la théorie émise récemment par Jennings, et l'on peut affirmer que l'Amibe ne roule pas sur elle-même. Son mode de progression, je l'ai déjà dit, doit être interprété autrement, et je compte revenir sur ce point. Il était intéressant cependant de constater ici déjà le fait.

Il n'est pas à craindre, je pense, qu'on fasse l'objection que dans le cas actuel il s'agit d'un *Mastigamœba* et non d'une *Amœba* vraie! Les deux genres sont en effet si voisins et l'on a toujours admis si spontanément — et à bon escient d'ailleurs — la similitude absolue de leur mode de reptation, qu'il est même superflu de s'arrêter à cette idée. Si, comme cela s'observe parfois chez les *Mastigamœba*, *M. pilosa* abandonnait à certain moment son flagel, on aurait alors devant soi une Amibe typique, mais couverte d'épines, et l'on pourrait encore faire les mêmes observations.

Comme on voit, *Mastigamœba pilosa* est un organisme intéressant à plus d'un point de vue. Il serait à désirer que l'on put découvrir l'origine de ces épines déjà si différenciées qui lui donne son aspect typique, et aussi que l'on découvre leur nature exacte. Les exemplaires que j'ai observés étaient malheureusement trop rares pour que je pus tenter cette étude, qui demandait d'ailleurs des ressources microchimiques dont je ne disposais pas. — Je n'ai non plus pas eu la chance de rencontrer des individus en voie de division.

---

3. *Dendromonas laxa* (Kent).

Sous le nom de *Anthophysa laxa* Saville-Kent a décrit et figuré dans le Monthly Microscopical Journal de 1871 un Flagellate incolore formant des colonies ramifiées dichotomiquement. En 1880 il établit pour lui dans son Manual un genre nouveau, *Cladonema*, qu'il place près de *Dendromonas* Stein. Dans ses Protozoa, Bütschli a réuni sous un seul nom *Dendromonas* et *Cladonema*, et son exemple a été suivi par Senn dans ses Flagellata (Engler u. Prandtl, Die natürl. Pflanzenfam., I).

Cependant *Dendromonas laxa* n'a pas été revu par ces auteurs, qui s'en réfèrent à ce qu'en dit Kent, et l'espèce semble n'avoir plus été étudiée depuis sa description. Ayant eu l'occasion de l'observer en détail je pense qu'il peut être utile de publier ici quelques

notes relatives à cet organisme et quelques dessins plus précis que ceux que nous donne l'auteur anglais.

Les premières colonies qu'observa Kent ne comprenaient que trois ou quatre individus; plus tard il put en étudier qui en comptaient plus de vingt. Ce chiffre n'est nullement un maximum et le nombre des individus peut être bien plus considérable. Mais il arrive fréquemment alors, la colonie étant assez grande et fragile que lorsqu'on étudie ses préparations on n'en trouve que des fragments, l'arbre qu'elle forme s'étant décomposé en plusieurs colonies-filles.

J'ai eu la chance de pouvoir étudier facilement

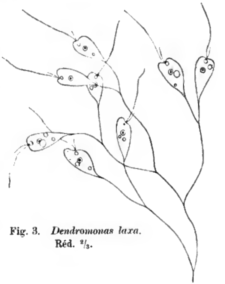


Fig. 3. *Dendromonas laxa.* Réd. $^2/_3$.



Fig. 4.

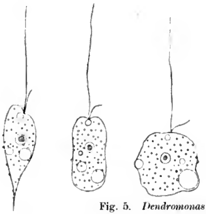


Fig. 5. *Dendromonas laxa.* — Réd. $^9/_{10}$.

le *Dendromonas laxa* car il s'était abondamment multiplié, au milieu d'une mince pellicule formée de Bactéries et autres organismes

inférieurs qui s'était développée à la surface d'une de mes cultures. En transportant dans une préparation une portion de cette pellicule je rencontrais à coup sûr le Flagellate.

Kent n'ayant observé que de petites colonies (ou fragments de colonies?) n'a pu étudier les ramifications anciennes. — Dans la pellicule qui me fournissait mon matériel, je rencontrais de nombreux filaments, plus ou moins ondulés, d'épaisseur variable, de coloration brunâtre plus ou moins accentuée suivant l'épaisseur des filaments. Ces filaments, rappelant assez bien par leur coloration et leur aspect général les tiges bien connues d'*Anthophysa vegetans*, m'intriguèrent pendant quelque temps. Mais je ne tardai pas à m'apercevoir, en suivant leur trajet, qu'il ne s'agissait pas de filaments simples: on constatait en effet qu'ils se ramifiaient dichotomiquement, la ramification étant surtout nette pour les filaments moins épais. Et en les suivant plus loin encore on les voyait devenir de plus en plus minces et aboutir finalement aux individus de *Dendromonas laxa* formant la colonie. Les filaments ou plutôt les ramification de divers âges de la colonie constituaient ainsi en se superposant une sorte de feutrage, peu serré d'ailleurs; la figure 4 représente une partie de ce feutrage tel qu'il se présente au microscope, on y voit notamment un rameau fort épais et coloré en brun contrastant avec les rameaux grêles et encore incolores voisins.

Comme l'a dit Kent, la ramification est dichotomique, et la dichotomie n'est pas régulière. La figure 3 est la reproduction d'un dessin fait à la chambre claire d'Abbe, oculaire compensateur 12, objectif à immersion homogène 2.0 Zeiss. Nous y voyons nettement que les rameaux se divisent dichotomiquement; mais les branches-filles ne se bifurquent pas nécessairement de la même façon ni au même niveau. Des deux branches nées d'une bifurcation l'une peut s'être divisée plusieurs fois tandis que l'autre ne porte encore que deux individus. De même les points de bifurcation ne se trouvent pas à des distances déterminées, égales entre elles ou à peu près: ces distances varient même assez notablement parfois. Mais il est fort rare qu'elles soient de longueur moindre que la longueur des individus normaux de *Cladonema laxa*: les rameaux ultimes, portant les Flagellates sont presque toujours à peu près aussi longs que ceux-ci. — De la figure 5, planche XVII, publiée par Kent il semblerait résulter que des deux branches d'une bifurcation l'une peut se ramifier plusieurs fois tandis que l'autre est représentée par une unique cellule, sans pédicelle même. Ce cas ne s'est jamais présenté dans les nombreuses préparations que j'ai étudiées: il s'agit

très probablement d'inexactitudes de dessin, assez fréquentes dans le Manual!

Chaque individu de la colonie offre la structure que voici. L'organisme est obpyriforme (fig. 5a), ressemblant assez bien à l'*Anthophysa elegans*; en arrière il va en se rétrécissant graduellement, en s'effilant, et il se continue ainsi insensiblement avec le pédoncule, qui est évidemment formé par différenciation du protoplasme ainsi étiré en un filament fort délicat (que le dessin représente fatalement trop épais!). Antérieurement la cellule est coupée tantôt obliquement tantôt plutôt transversalement: ce dernier cas est plus rare. D'un des côtés la troncature se prolonge d'ordinaire en une petite saillie ou „rostre", comme on l'observe également chez *Anthophysa*, l'autre côté étant plus obtus; entre les deux, au fond d'une dépression peu accentuée, se trouve l'insertion des flagels. Sur la figure on peut déjà voir que la face „dorsale" de l'organisme, celle correspondant au rostre, est moins convexe que la face „ventrale", qui lui est opposée; mais ce n'est pas règle absolue, bien entendu.

Le plasma renferme des granulations réfringentes assez nombreuses, légèrement verdâtres ou jaunâtres que l'on retrouve aussi adhérant à la surface externe. — On rencontre, localisées de préférence dans la partie postérieure du corps, des vacuoles alimentaires en nombre variable, deux ou trois d'habitude; elles viennent crever en un endroit quelconque à la périphérie. Ce sont évidemment ces vacuoles que Kent a pris pour des vacuoles contractiles, car d'après lui la vacuole pulsatile se trouve dans la partie postérieure du corps. Or il n'en est rien et il n'est guère difficile de découvrir l'unique vacuole contractile dans la région antérieure près de l'insertion des flagels. — Le noyau n'est pas facile à distinguer sur le vivant: il est localisé un peu avant le milieu de la cellule; sa forme est sphérique, il renferme un corps chromatique arrondi entouré d'une large zone pâle.

Les flagels sont au nombre de deux, l'un long, l'autre court. La longueur du premier égale de une fois et demie environ à deux fois celle du corps. Le second, que l'on distingue déjà assez facilement sur le vivant, égale ordinairement le cinquième à peu près du précédent.

En somme l'aspect des individus près isolément est assez semblable à celui des *Anthophysa*, des *Monas*, etc. L'organisme se rencontre comme eux dans les milieux riches en Bactéries, dont il fait sa nourriture.

Avec Anthophysa le *Dendromonas laxa* a un autre caractère en commnn. On sait qne lorsqn'on place dans le champ dn microscope une colonie d'*Anthophysa vegetans*, on ne tarde pas à voir les agglomérations sphériqnes de Flagellates qui terminent les rameaux, se détacher de cenx-ci et nager librement dans la préparation; tantôt les individus restent réunis, tantôt l'association se désagrège et les différents individus sont mis en liberté.

De même lorsqu'on observe au microscope une colonie de *Dendromonas laxa* en l'éclairant fortement, on voit bientôt les Flagellates se séparer de leur pédicelle et se mettre à nager librement. Lorsqne l'organisme se détache, la séparation se fait nn pen avant le niveau oñ se termine le pédicelle, on ponr mieux dire, nn pen avant l'endroit où celui-ci se continue nettement en le corps. En se séparant le Flagellate emporte donc, semble-t-il, le sommet du pédicelle, en réalité la partie inférieure la plus étirée du corps, non encore différenciée. La figure 5a le représente nn individn venant de se détacher de la colonie.

Mais, comme c'est le cas également pour *Anthophysa*, l'organisme, devenn libre, ne conserve pas cet aspect pyriforme, étiré en arrière. Peu-à-pen cette sorte de qneue est résorbée, l'extrémité postérienre s'arrondit et le Flagellate prend nne forme plutôt cylindrique, les denx bouts étant obtns: c'est ainsi qne le montre la fignre 5b. Enfin il pent finalement s'arrondir de plus en plus et prendre nne forme subsphériqne, tout comme nn *Monas*: la figure 5c le représente sons cet aspect, l'nne des vacnoles fait fortement saillie à la surface dn corps.

Le *Dendromonas laxa* constitne évidemment nne des formes les plus simples de la colonie chez les Monadacés. On pent se le représenter comme un *Monas* qui s'est fixé et dont les descendants nés par division longitudinale sont restés associés mais en différenciant un pédicelle chacnn pour soi. Je ne connais pas le genre *Dendromonas* de STEIN autrement que par les descriptions et figures qui en ont été pnbliées, mais il semble bien que BÜTSCHLI soit dans le vrai en réunissant *Dendromonas* et *Cladonema*, bien que le caractère du *D. virgaria* que tous les individus de la colonie se trouvent en un même place horizontal soit assez curieux.

J'ai trouvé en abondance ce Flagellate dans une culture renfermant des *Sphagnum* rapportés de Genck, dans la Campine limbonrgeoise. Il se trouvait probablement snr les fenilles de ceux-ci et s'est peu-à-peu mnltiplié, formant alors à la surface le résean ou fentrage dont j'ai parlé plus haut.

Il y a peu de temps j'ai eu l'occasion de voir un *Dendromonas* qui m'a paru voisin du *D. laxa* mais bien distinct néanmoins; je n'ai pu l'étudier de façon détaillée malheureusement jusqu'ici. C'était une forme à individus plus petits, pédicelles bien plus longs et plus délicats.

---

4. *Clautriavia mobilis* Mass. et *Cl. parva sp. n.*

M. le Professeur Massart, mon ancien maître et initiateur dans l'étude des Flagellates a décrit en 1900, dans le Bulletin de la Société des Sciences médicales et naturelles de Bruxelles (58e année, p. 133—134), un curieux Flagellate qu'il rapporte au groupe des Anisonémées et qui est fort intéressant en ce qu'il possède non pas deux flagels, comme c'est la règle générale dans ce groupe, mais un seul, correspondant au flagel postérieur des autres genres. La publication dans laquelle a paru la notice de M. Massart étant assez peu répandue, il n'est pas étonnant qu'elle semble avoir passé inaperçu et que le Zoological Record notamment ne cite pas le *Clautriavia mobilis*. Il est donc, je pense, intéressant de reproduire ici la description donnée par M. Massart ainsi que la figure qui l'accompagne (fig. 6).

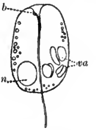


Fig. 6. *Clautriavia mobilis.* Réd. $^{9}/_{10}$.



Fig. 7. *Clautriavia parva.*

„Le corps est long de 18—20 μ, large de 12—13 μ, épais de 6—7 μ. Il est entouré d'une membrane rigide, à double contour apparent. La bouche (*b*) est antérieure et ventrale; elle se continue en arrière par un pli longitudinal médian. Le fouet unique part du fond de la bouche et se dirige en arrière. Le noyau (*n*) est à gauche (à droite en réalité, d'après la figure, qui représente le Flagellate vu par la face ventrale), près du bord postérieur.

L'organisme se nourrit principalement de Flagellates verts et de zoospores d'Algues, dont il suce le contenu; l'ingestion d'une seule cellule d'Algue donne plusieurs vacuoles alimentaire (*v. a.*). En outre, il y a dans les cellules de nombreux grains réfringents, incolores, qui sont probablement du paramylon.

Ce Flagellate ne nage pas librement dans le liquide: il s'appuie

avec son fouet contre un objet résistant et se pousse en avant par des mouvements saccadés qui le jettent alternativement à droite et à gauche. Le fouet unique semble donc représenter, fonctionnellement et morphologiquement, le fouet traînant (*pulsellum*) des Anisonémés.

Quand un individu est suffisamment repu, il s'arrête pour se diviser pendant la digestion; ces individus fixés ne sont jamais encystés. La division est longitudinale; la bouche primitive s'efface et les nouvelles bouches se forment sur les faces opposées (contigues) des deux jeunes individus.

Je crois pouvoir considérer cet organisme comme un Flagellate Anisonémé qui a perdu le fouet antérieur . . . . . ."

Le *Clautriavia mobilis* fut découvert parmi des Algues recueillies par le regretté Professeur Leo Errera à Nieuport, sur la côte belge, dans un fossé d'eau douce.

Etudiant l'an passé chez M. Massart une récolte d'Algues faite à Nieuport également mais dans un fossé renfermant de l'eau saumâtre, bien connu des botanistes belges sous le nom de „fossé aux Ruppia", j'ai eu la chance d'y rencontrer quelques rares exemplaires d'un minuscule Flagellate qui me rappela aussitôt la description donnée du *Clautriavia*. En les étudiant j'ai pu déterminer quelques points que Massart n'avait pas élucidés pour son espèce.

La figure 7 représente mon Flagellate vu de dos, c'est-à-dire rampant sur la lame de préparation; la figure 6 . . . est la reproduction de celle qu'a publiée Massart et montre le *Cl. mobilis* vu par la face ventrale, rampant donc sur le Deckglass. Les deux figures ont été faites au même grossissement: obj. apochr. Zeiss imm. 2.0, oc. compens. 12, appareil à dessiner d'Abbe. Leur comparaison montre qu'il s'agit évidemment d'organismes fort voisins mais qui cependant se distinguent l'un de l'autre par divers caractères. Le *Cl. mobilis* de Massart est notablement plus grand, sa forme est plus allongée, à côtés latéraux subparallèles ou peu convergents en avant, tandis que chez mon espèce il est fort nettement plus large en arrière; en avant le *Cl. mobilis* est coupé peu obliquement, mon *Clautriavia* l'est de façon prononcée; le *Cl. mobilis* présente un sillon ventral net, manquant chez mes spécimens; enfin le flagel de *Cl. mobilis* ne dépasse le corps en arrière, que de la moitié de la longueur de celui-ci, tandis que mon espèce possède un flagel fort long, à peu près quatre fois aussi long que le corps. Ces caractères, les principaux ressortant de la comparaison des figures, font voir que les *Clautriavia* étudiés par Massart et par moi ne sont pas identiques, et pour l'espèce

que j'ai observée je proposerai le nom de *Clautriavia parva*. En voici la description:

L'organisme est de forme ovoïde, nettement rétréci en allant vers l'avant; sa plns grande largeur est près de l'extrémité postérieure. Celle-ci est coupée obliquement, pas très fortement d'ailleurs, les angles étant largement arrondis, l'angle ganche à peu près droit. Le bord ganche est à pen près rectiligne jusqne près de l'avant, le bord droit est fortement conrbé en dehors, convexe donc; lorsque l'organisme progresse, le bord gauche est presque parallèle au flagel, le bord droit est convexe et se continue obliquement jusqn'à la rencontre du bord gauche, sons nn angle arrondi; la cellnle paraît ainsi coupée fortement obliqnement en avant, à droite. La largeur n'est pas beancoup inférienre à la longueur; l'épaisseur égale environ un quart de la longueur. La membrane superficielle est rigide, la forme du corps fixe.

La bouche est antérieure et ventrale; elle se trouve près de l'angle antérieur ganche et représente une simple dépression semblabe à celle des *Petalomonas*; elle n'est pas continuée en arrière en un sillon net comme c'est le cas chez *Cl. mobilis*. Près de la bouche, à ganche, se trouve le systéme vacuolaire (que Massart n'avait pas observé) et qui est constituée d'une vacuole pulsatile assez petite se vidant dans un „réservoir" plus grand. Dans la région postérieure du corps, vers la gauche, est logé le noyan, assez volumineux, sphérique.

Le corps renfermait dans les qnelques individus étudiés de nombreuses vacuoles alimentaires, provenant de l'absorption de cellules d'Algues qne je n'ai pu déterminer; je n'ai pu observer la préhension de la nourritnre. En outre j'ai également constaté, comme chez *Cl. mobilis*, la présence de granules plus ou moins nombreux, réfringents, incolores, prodnits de la nutrition vraisemblablement.

Le flagel est, je l'ai dit, uniqne et correspondant an flagel postérieur des Anisonémées, comme le dit Massart. Il n'est pas logé dans nn sillon à la face ventrale du corps; il naît à la partie postérieure de la bouche et se dirige en arrière. Sa longueur égale en général environ trois fois celle du corps; il est assez épais mais moins cependant, proportionellement bien entendu, que celui de certains *Anisonema* par exemple.

Durant la progression, l'organisme n'est pas „conché" sur le substrat: il ne s'y applique qne par son extrémité antérieure, comme le font en général les *Petalomonas*, la cellule prenant nne orientation obliqne ou même presque verticale par rapport au substrat, le flagel

par contre traine sur toute sa longuenr. Ce flagel ne semble pas servir à la progression, l'organisme avançant par saccades, comme le décrit Massart, en se jetant alternativement à droite et à ganche.

Je n'ai pu observer la division chez les spécimens étudiés.

Qnant à la parenté de *Clautriavia* je crois avec Massart que ce curieux genre doit être classé parmi les Anisonémés. Ce serait en quelqne sorte nn type qui a perdn le flagel antérieur que possède tons les genres qui constitnent ce groupe. — L'organisme n'est pas sans qnelque analogie avec les *Petalomonas*, à flagel nniqne mais antérienr et à nourriture animale d'aillenrs, lorsqne, comme on l'observe parfois, cenx-ci tentent de se dégager d'obstacles qn'ils rencontrent et s'orientent alors de telle façon que leur flagel soit dirigé en arrière, comme c'est le cas normal chez *Clautriavia*. Mais cette ressemblance est évidemment tonte fortuite.

5. *Petalomonas mira* Awer.

L'éminent protistologue russe, Prof. Awerintzew, a décrit en 1901 nn curieux *Petalomonas*, qu'il a appelé *P. mira*, caractérisé surtont par le fait que la face dorsale présente trois fortes carènes longitndinales. La description de cette espèce a paru dans le Ber. Biolog. Süßwasserstation Naturf. Ges. S[t] Petersb., Bd. I, p. 224, pl. I, fig. 16 (1901), ainsi qne dans les Protok. S. Petersb. Obsch., XXX, p. 249 (1902).

Cette description étant pen accessible, je crois bon de la reproduire ici, traduite du rnsse:

„La face inférieure on ventrale, presque tonjonrs tournée vers le substrat, représente une surface légèrement concave dans l'axe longitndinal et se prolonge en avant en un court rostre, arrondi, légèrement conrbé à droite, à la partie inférieure duqnel se tronve une petite échancrure; près de celle-ci s'insère le flagel, à une légère distance dn bord antérieur de l'organisme. La face ventrale est le plns large au milien de sa longueur; en arrière elle se continue en deux saillies, sortes de „cornes", séparées par une échancrure arrondie assez profonde. En dessus, sur la face dorsale, et partant du rostre il y a trois „carènes" à peu près parallèles à l'axe longitudinal dn corps, à crête amincie et allant en s'élevant de l'extrémité antérieure à l'extrémité postérieure. L'une d'elle occupe la ligne médiane; elle est légèrement courbée dans la partie antérienre et se prolonge en arrière nn pen au delà du bord concave

indiqué plus haut, constituant ainsi une troisième saillie, dorsale. Les deux autres carènes sont latérales par rapport à la première; elles se trouvent à peu près à égale distance de celle-ci et du bord externe et n'atteignent pas l'échancrure postérieure. Je n'ai pu observer le noyau ni les vacuoles pulsatiles. Près du bord extérieur de l'organisme se trouvent, disposés en ligne, des grains de nature

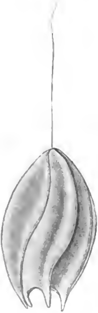


Fig. 8a.

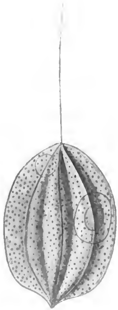


Fig. 8b.

Petalomonas mira. — Réd. $^3/_4$.

non déterminée (paramylon?). Le corps renferme des résidus alimentaires et des gouttelettes graisseuses. La progression est fort lente, par reptation sur le substrat. Longueur de l'organisme, environ 0,026—0,03 mm; largeur, 0,018 mm (flagel un peu plus long que le corps)."

J'ai eu la chance de retrouver, à Coxyde également, dans la même mare qui m'a donné le *Mastigamœba pilosa* et d'autres formes intéressantes, ce joli *Petalomonas*, et j'en profite pour compléter la

description d'Awerintzew et ponr donner quelqnes détails nonveaux sur cette espèce pen commnne. Tons les exemplaires qne j'ai observés étaient déponrvus de „rostre“ antérienr, leur strnctnre était également autre que ne le décrit Awerintzew en ce qni concerne les carènes; ils ne me paraissent toutefois pas représenter nne espèce distincte et je les considère comme nne simple variété qne j'appellerai *P. mira* var. *aberrans.*

L'organisme est d'assez grande taille et sa strncture „élégante“ lui fait bien mériter le nom de *mira* qne lni a imposé mon collègue russe! Il est de teinte pâle et son plasma renferme des grannlations brillantes plus on moins abondantes. La forme générale dn corps est elliptique, l'extrémité antérieure non prolongée en nn bec conrbé en dehors, l'extrémité postérieure acnminée d'ordinaire.

Je n'ai pas vu d'exemplaires correspondant exactement à la description d'Awerintzew ni à sa figure, d'après lesquelles le corps se prolongerait en arrière en deux saillies marginales et sa face dorsale présenterait trois carènes dont les denx latérales s'arrêteraient un peu avant l'apex. Chez tous mes spécimens, les carènes s'étendaient toutes trois aussi loin en arrière et de même naissaient au même niveau en avant. La fig. 8b représente l'organisme tel qn'il se présentait d'habitude: On voit que les carènes se continnent en arrière jnsqu'à l'extrémité même du corps, les bords libres se conduisant ici en somme comme deux carènes également, carènes marginales. Les carènes ont nn trajet soit rectiligne soit nn peu sinué ou en forme de **S** fortement étiré. Elles sont, en coupe, triangulaires, plns ou moins amincies au sommet mais d'ordinaire à tranche pas très fine, elles vont en s'élevant peu-à-peu à partir de l'avant jusqne vers la moitié puis diminuent graduellement de hauteur pour se terminer à l'apex postérieur. — D'habitnde l'épaissenr du *Petalomonas* n'est guère supérieure à la moitié de sa hauteur.

La figure 8a représente l'organisme sous un autre aspect, fort différent du précédent à première vue: sous cette forme il semblait se monvoir plus rapidement. Dans ce cas nous voyons que le *Petalomonas* s'est en quelque sorte ramassé sur lui-même, le diamètre ventral a diminué, les bords se sont rabattns davantage vers le bas, formant plus nettement carènes, et les trois carènes dorsales sont nettement courbées en **S** allongé . . . . Et de plus, fait intéressant, nous voyons ici chacune des carènes, et chaque bord également, se continuer en arrière en un prolongement, on saillie, acuminé fort net, chacun bien distinct de ses voisins: l'organisme se termine ainsi par cinq prolongements distincts. Nous avons là.

en somme, l'exagération de ce que nous représente le dessin de l'auteur russe, où les deux bords se continuent déjà en arrière et où la carène médiane fait un peu saillie.

Au premier abord il paraîtrait que cette deuxième forme est totalement distincte de la première. Mais un examen attentif d'individus appartenant à ce premier type mène bientôt à la conclusion que la forme à cinq prolongements terminaux séparés n'est qu'une transformation temporaire de celle qui est régulièrement acuminée en arrière. En effet il arrive parfois que l'on constate chez celle-ci que l'apex postérieur n'est pas simple comme il le paraissait, mais simplement constitué par le rapprochement des saillies que l'on trouve séparées chez la forme décrite en deuxième lieu. Ainsi l'on observe des exemplaires chez lesquels les extrémités des cinq saillies sont bien nettes, d'autres où la carène médiane par exemple est séparée à son extrémité des autres carènes et se prolonge librement, et il arrive même que si l'on étudie un même individu à différents moments il se présente soit sous l'une des formes indiquées soit sous l'autre. Je n'ai pu déterminer avec quelque certitude le motif amenant l'organisme à prendre l'une ou l'autre forme, mais peut-être s'agit-il simplement d'une question de locomotion.

Le flagel est un peu moins long que le corps ou tout au plus aussi long que lui (Awerintzew le dit de longueur légèrement supérieure à celle du corps mais le figure notablement plus long); il est plus mobile à l'extrémité distale; il est inséré dans une faible dépression antérieure du corps, et naît près de l'extrémité antérieure.

Le système vacuolaire, composé d'une vacuole principale et d'une vacuole pulsatile annexe, est d'ordinaire peu visible par suite de la structure même de l'organisme; mais avec quelque attention on arrive néanmoins à la distinguer. — Dans le corps même j'ai en outre parfois rencontré quelques vacuoles non pulsatiles.

Le noyau est situé vers le milieu du corps, du côté droit de l'organisme; il est grand, de forme elliptique-ovalaire, et renferme une grosse masse chromatique de même forme que lui.

Je n'ai pu étudier la division ni la nutrition de ce beau *Petalomonas.* Et je n'ai pas observé le long du bord externe la série de granulations qu'indique Awerintzew pour ses spécimens.

6. *Errera mirabilis n. gen. n. sp.*

Dans un échautillon d'eau recueilli le 28 mars 1905 dans l'nn des marais de Genck, dans la Campine limbourgeoise belge, j'ai

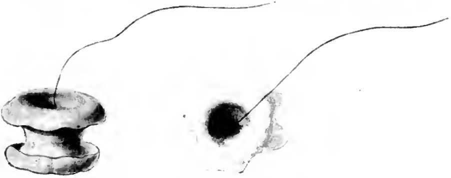


Fig. 9. *Errera mirabilis.* Fig. 10.

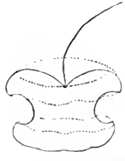


Fig. 11. *Errera mirabilis.*

rencontré un Flagellate extraordinaire que je n'ai trouvé mentionné nulle part et que je crois pouvoir décrire ici bien que je n'ai pu l'étudier de façon anssi détaillée que je l'eus désiré.

J'ai appelé *Errera* cet organisme intéressant en souvenir de mon ancien maître, le regretté Leo Errera, fondateur de l'Institut Botanique de Brnxelles, enlevé prématurément, il y a peu de mois, à ses travaux et à la Science.

Comme le montrent les figures 9 et 10 ci-contre, la forme de l'organisme est assez curieuse, bien différente de celle que présentent d'habitude les Flagellates. Je ne puis mieux la comparer qn'à celle de denx chapeaux d'Agaricacées réunis par une base commune représentant, si l'on vent, les parties supérieures des denx pieds accolées par la tranche basale; les deux chapeaux sont déprimés en dessus.

La figure 11 montre l'*Errera* en coupe optique longitudinale, ce qui permet de mieux saisir sa structure bizarre.

La partie médiane est plus étroite en son milieu, mais en avant et en arrière elle va en s'élargissant, et aux deux extrémités de ce

„pied“ commun se trouvent les deux „chapeaux“, dont la concavité est tournée vers le pied.

Si nous examinons la face antérieure du chapeau antérieur, celle qui porte le flagel, nous voyons qu'elle est en forme de coupe, se déprimant en une sorte d'entonnoir large et pas très profond, graduellement rétréci; au fond de cet entonnoir s'insère le flagel. En dehors il se continue insensiblement avec le reste du chapeau, sans crête ni séparation aucune.

Les bords du chapeau antérieur sont épais, nettement rabattus vers le bas ordinairement, constituant ainsi autour de l'insertion du pied une sorte de gouttière, comme le représente la figure 11, coupe imaginaire de l'organisme. Le contour marginal du chapeau n'est pas régulièrement arrondi, comme l'est la coupe transversale médiane de l'organisme: ce contour est sinué, ainsi que le montrent la figure 10, représentant l'*Errera* vu de face, de même que la figure 9 où il est vu de côté; il n'y a d'ailleurs pas de régularité non plus dans les sinuosités marginales, et tantôt l'on n'observe que de légères ondulations, tantôt au contraire le bord est assez profondément découpé.

Le chapeau postérieur est assez semblable au chapeau antérieur. Il forme également gouttière autour de la base, et de même la face postérieure (c'est-à-dire celle qui est libre) est déprimée: mais ici la dépression n'est pas en forme d'entonnoir, étant moins profonde et arrondie. Les sinuosités marginales sont d'habitude plus accentuées que celles que présente le bord du chapeau antérieur; sur l'organisme vu de profil on voit souvent que le sommet du chapeau postérieur offre des dépressions répondant à des sillons longitudinaux qui naissent dans la concavité et s'étendant vers le bord marginal, les parties surélevées qui séparent les sillons correspondant aux lobes marginaux.

Parfois, c'est à peine s'il y a un rebord, soit à l'avant soit à l'arrière, et j'ai même observé un individu chez lequel la partie postérieure n'était nullement rebordée, tout en étant profondément lobée sur tout son contour.

L'organisme est très légèrement grisâtre, de teinte mate, pâle. A la surface il n'y a pas différenciation en une membrane tranchée. Le plasma renferme des granulations peu nombreuses, assez petites. Le flagel, qui, nous l'avons vu, s'insère au fond de l'entonnoir antérieur, est bien net, assez fort, et mesure de deux à trois fois environ la longueur du corps; à sa base il s'épaissit un peu.

La forme de l'*Errera* est assez constante. Il mesure de 20 à

25 μ de long (les figures ci-jointes n'ont pas été faites à la chambre claire). — Je n'ai pu étudier ni le noyau ni la vacuole pulsatile malheureusement.

L'organisme nage assez rapidement, en donnant des coups de flagel assez espacés entre eux; il avance en tournant sur l'axe longitudinal de gauche à droite, et en même temps on observe un mouvement de balancement sur l'axe transversal, de telle sorte qu'on aperçoit tour-à-tour de profil la face antérieure et la face postérieure.

Les spécimens que j'ai rencontrés étaient en très petit nombre et je n'ai pu observer l'espèce qu'un seule fois . . . je n'ai donc pu l'étudier de façon détaillée, mais il est hors de doute qu'il ne s'agisse d'un type absolument nouveau de Flagellates! Sa position systématique ne peut encore être déterminée avec certitude, le système vacuolaire notamment étant encore inconnu. Mais je suis fort enclin à croire que *Errera* doit être classé parmi les *Protomastigenae*.

NB. — Les figures 1 à 8 (inclus) accompagnant cette notice ont toutes été dessinées à la chambre claire d'Abbe, objectif apochromatique à immersion homogène 2.0 de Zeiss, oculaire compensateur 12. Sous chacune d'elles est indiquée la réduction employée pour la reproduction.

Nochmals über *Stentor coeruleus.*

Von

Dr. **Eugen Neresheimer** (München).

Da eine von mir in diesem Archiv veröffentlichte Arbeit [1]) gleichfalls in diesem Archiv [2]) kürzlich scharf angegriffen und in fast allen ihren morphologischen Ergebnissen als falsch hingestellt wurde, sehe ich mich leider gezwungen, an dieser Stelle mich zu der Sache kurz zu äußern, und das Bild, das die Leser der letztgenannten Arbeit sich von meinen Fähigkeiten machen müssen, etwas zu retouchieren.

Um was es sich handelt, ist in dén beiden Arbeiten nachzulesen. Zuzugeben ist von vornherein, daß die von mir angegebenen Konservierungsmethoden für sich allein nicht geeignet erscheinen, einwandfreie Resultate zu erzielen, und daß ich es versäumt habe, genügend die eigentlich selbstverständliche Tatsache hervorzuheben, daß ich auch andere bewährte Methoden zur Kontrolle herangezogen habe. Was hiermit nachgeholt sei. Desgleichen scheine ich nicht genügend betont zu haben, daß es auch mir möglich ist und war, am kontrahierten *Stentor* die Myophane schon an ihrem Kontraktionszustande zu erkennen. Aber man hätte dies vielleicht doch aus dem Satze (S. 310) herauslesen können: „Während nämlich bei diesen (den kontrahierten *Stentoren*) die Muskelfibrillen, ihrer Funktion gemäß, sich verkürzt und, besonders im aboralen Körperdrittel, oft fast bis

[1]) E. Neresheimer: Über die Höhe histologischer Differenzierung bei heterotrichen Ciliaten. Bd. 2 Heft 2 1903.

[2]) O. Schröder: Beiträge zur Kenntnis von *Stentor coeruleus* Ehrbg. und *St. roeselii* Ehrbg. Bd. 8 Heft 1 1906.

auf das Dreifache verdickt zeigen, bleiben die Neurophane ersichtlich stets gleich lang nnd gleich dick, im kontrahierten Tiere liegen sie schlaff nnd etwas geschlängelt über den Myonemen in den Zwischenstreifen.“

Ich müßte also wohl zur Abwechslnng einmal hier die Zwischenstreifen für Nenrophane genommen haben. Nur fürchte ich, die Zwischenstreifen schlängeln sich beim kontrahierten Tier nicht.

Ferner gab ich an und illnstrierte durch meine — zugegeben, nicht sehr schönen! — Figuren, daß die Zwischenstreifen bei meinen Stentoren ungefärbt geblieben seien. Wenn meine Neurophane Myoneme, meine Myoneme aber Zwischenstreifen sind, oder nmgekehrt, was sind dann die ungefärbten Streifen, in die sie beide eingelagert sind? Liegen zwischen Rippen- nnd Zwischenstreifen noch weitere Streifen?

Es bleibt nur übrig, daß meine Angaben im Text anch nicht wahrheitsgetreu sind, wie dies so frenndlich von meinen Fig. 7 n. 8 angenommen wird. Meine Figuren sind allerdings insofern schematisiert, als ich Überflüssiges und nicht zur Sache Gehöriges nicht mit gezeichnet habe, wie z. B. die Pigmentkörner, deren Fehlen so große Verwunderung erregt.

Daß die von mir angewandte Färbungsmethode nach Mallory in ihren Resultaten lannisch und wechselnd ist, weiß jeder, der sie einmal versucht hat. Wie viele Präparate mir mißlangen nnd keine Nenrophane zeigten, weiß ich nicht mehr; aber es war sicher die Mehrzahl. Immerhin besitze ich noch hente einige, die deutlich das zeigen, was ich s. Z. beschrieben habe.

München, Jannar 1907.

Zur Statik und Entwicklung des Coelographidenskelettes.

Achte Mitteilung über die Radiolarien der „Valdivia"-Ausbeute.

Von

Valentin Häcker

Technische Hochschule, Stuttgart.

(Hierzu 20 Textfiguren.)

Die Coelographiden stellen wohl, neben den Planktonetten, die am höchsten entwickelten Radiolarien dar und mit Recht hat A. Lang in seinem Lehrbuch eine dieser Formen (*Coelospathis ancorata*) einer eingehenden Schilderung gewürdigt, um an ihr zu zeigen, wie weit im Körper eines Einzelligen die Komplikation und Spezialisierung der Formverhältnisse gehen kann. Nun wird aber der Leser beim Studium sowohl des „Challenger"-Reports, als auch des Lang'schen Lehrbuchs unmittelbar den Eindruck gewinnen, daß zwar in rein morphologischer Richtung unsre Kenntnis dieser wunderbaren Organismen eine sehr erschöpfende ist, daß aber in physiologischer Hinsicht, insbesondere was die biologische Bedeutung der speziell für die Coelographiden charakteristischen Strukturen anbelangt, sich auf Schritt und Tritt unbeantwortete Fragen erheben. In der Tat bin ich denn auch bei der Bearbeitung der Coelographiden der „Valdivia"-Ausbeute zu meiner Freude gewahr geworden, wie sich gleich beim Betreten des Gebietes nach allen Seiten hin eine freie Bahn eröffnete und welche Fülle von anziehenden Problemen gerade diese Gruppe der Tripyleen darbietet.

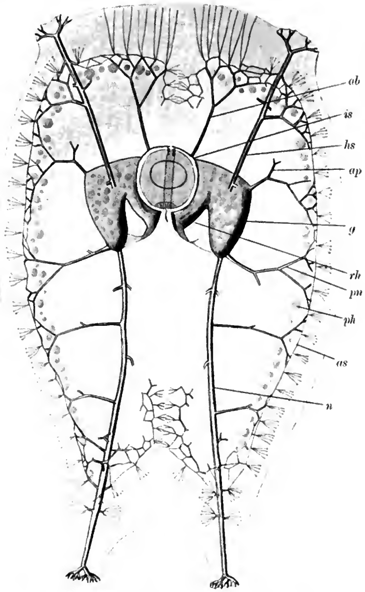


Fig. 1. *Coelographis antarctica* n. sp. Ansicht vom Schalenspalt aus.
ab Aboraldendrit. *is* innere Schale. *hs* Hauptseitengriffel. *ap* Apikaldendrit.
g Galea. *rh* Rhinocanna. *pn* Postnasaldendrit. *ph* Phäodellen.
as Äußere Gitterschale. *n* Nasalgriffel.

Es seien zunächst an der Hand einer neuen Form, *Coelographis antarctica*, die wichtigsten Strukturen nochmals vorgeführt (Fig. 1). Die Zentralkapsel ist unmittelbar eingeschlossen von der inneren Schale (*is*). Diese besteht aus zwei dünnwandigen, von Poren durchbrochenen, hemisphärischen Schalenklappen, welche am aboralen (der Astropyle gegenüberliegenden) Rande eine Zähnelung, ähnlich derjenigen der Conchariden besitzen.[1] Jede Halbschale trägt einen hohlen, ambosförmig nach der Oralseite verlängerten, als Helm oder Galea bezeichneten Aufsatz (*g*), dessen Basis in eine, zum oralen Schalenrand hinziehende Röhre, das Nasenrohr oder die Rhinocanna (*rh*), ausgezogen ist. Die Öffnung der letzteren besitzt einen aufgekrempten Rand, welcher mit der oralen oder Stirnfläche der Galea durch eine dünne Kieselbrücke, das Frenulum, verbunden ist.

Die äußere Gitterschale (*as*) ist ebenfalls zweiklappig. Da jede der beiden äußeren Schalenhälften im ganzen die Gestalt eines flachen (kiellosen) Bootes mit zugeschärftem Bug und abgestutztem Heck besitzt, so hat die äußere Gitterschale und damit auch das ganze Tier die Form einer Pyramide mit rechteckiger Grundfläche und demgemäß mit einer senkrechten, ungleichpoligen Hauptachse und zwei horizontalen, gleichpoligen, untereinander aber ungleichen Kreuzachsen. An der Hauptachse kann man einen durch die Lage der Astropyle bestimmten, oralen (nach Häckel oberen, nach meiner Auffassung unteren)[2] und einen aboralen Pol unterscheiden, die beiden Symmetrieebenen der Pyramide mögen als Spaltebene und Apikalebene bezeichnet werden. Erstere (die Frontalebene Häckel's) stellt die Trennungsebene der beiden Schalenhälften dar, die Apikalebene (Sagittalebene Häckel's, in Fig. 1 die Zeichnungsebene) schneidet die Apices der Galeae und bildet also die gemeinschaftliche Medianebene der beiden Galeae und Rhinocannae. Außer der Hauptachse und den genannten Ebenen

[1]) Häckel bildet (Report, tab. 127, fig. 8) eine Schalenklappe von *Coeloplegma murrayanum* ab, deren Seitenränder gleichmäßig mit Zähnchen besetzt erscheinen. Ich habe die Zähnchen bei allen Formen, einschließlich einiger Exemplare von *Coeloplegma murrayanum*, stets nur am aboralen Rande der Schalenklappen angetroffen.

[2]) Für zahlreiche Tripyleen, insbesondere für diejenigen, bei welchen die Centralkapsel in unzweideutiger Weise einen Schwebeapparat darstellt (*Planktonetta*, *Nationaletta*, *Atlanticella*), läßt es sich wahrscheinlich machen, daß die Centralkapsel oberhalb des Phäodiums gelegen und demnach die in das Phäodium getauchte Astropyle nach abwärts gerichtet ist. Auch bei den Coelographiden scheint mir das allgemeine statische Empfinden auf eine entsprechende Orientierung hinzuweisen.

hat die die Apices der Galeae verbindende Apikalachse (Sagittalachse Häckel's) eine für die Orientierung der Skeletteile wichtige Bedeutung.

Die innere und äußere Gitterschale sind miteinander verbunden durch die radialen Skelettelemente, welche ausschließlich in Form verästelter Kieselröhren auftreten. Es sind zweierlei Gebilde zu unterscheiden: 1. dichotomisch verzweigte Röhren oder, wie ich sie nennen möchte, Dendriten, welche mit ihren Endverzweigungen nur bis an die äußere Gitterschale herantreten, und 2. Griffelröhren, welche mehr oder weniger über die äußere Gitterschale hinaus verlängert und innerhalb der letzteren mit dendritischen Innenästen, außerhalb mit freien, ankertragenden Seitenbäumchen und mit einer aus einem Kranz fingerförmiger Endsprossen bestehenden Terminalkrone versehen sind (vgl. Fig. 1, *n*). Speziell bei *Coelographis* sind in jeder Hälfte des Tieres sechs Radialröhren vorhanden. Von diesen sind die vier unpaaren in der Apikalebene gelegen, nämlich erstens ein stark entwickelter, oralwärts gerichteter Nasalgriffel (*n*), dicht dahinter ein kurzer Postnasaldendrit (*pn*), ferner an der Grenze zwischen der Apikal- und Aboralfläche der Galea ein Apikal- (*ap*) und schließlich auf der Schalenklappe selbst, zwischen Galea und bezahntem Aboralrand, ein Aboraldendrit (*ab*). Außerdem gehen von den Seitenflächen der Galea die schräg aboralwärts gerichteten Hauptseitengriffel (die Tergalröhren Häckel's) ab (*hs*).

Bezüglich des Weichkörpers ist zu erwähnen, daß nach den Mitteilungen Bütschli's über die Gattung *Coelothamnus* und nach zahlreichen mir vorliegenden Präparaten, das ganze Skelett, einschließlich der Terminalkronen und der Seitenbäumchen der Griffel, von der Gallerte, beziehungsweise von einer dieselbe einhüllenden extrakalymmalen Sarkodehaut eingeschlossen ist. Die Terminalbildungen erscheinen also auch bei dieser Tripyleengruppe in funktioneller Hinsicht als Träger des Oberflächenhäutchens und damit in erster Linie als äußere Druckfänger und ebenso sind die Ankerfädchen nicht als Fangapparate, sondern als Stützelemente zu betrachten. Hinsichtlich der Phäodellen (*ph*) sei hier nur erwähnt, daß dieselben bei *Coelographis* und verwandten Formen in der Regel auf den Innenraum der Galeae und auf die Oberflächenschicht des Weichkörpers konzentriert sind. Seltener finden sich Anhäufungen von Phäodellen in der Astropylengegend vor.

Soviel über den Bau und die Funktion der einzelnen Strukturen speziell von *Coelographis antarctica*. Einen tieferen Einblick in die Bedeutung der komplizierten Formverhältnisse, insbesondere der

Galea und Rhinocanna, erhält man, wenn man zum Vergleich weniger spezialisierte Typen, insbesondere die von Häckel als eine eigene Familie behandelten Coelodendriden heranzieht.

Die einfachsten Verhältnisse finden sich bei den kleineren, sphärisch gestalteten, vorzugsweise in den Oberflächenschichten vorkommenden *Coelodendrum*-Arten (*C. ramosissimum, spinosissimum, furcatissimum*). Speziell bei *C. ramosissimum* (Fig. 2) bildet die Galea einen schmalen, quer zur Hauptachse gelegenen Wulst oder Bügel, welcher in der Mitte am höchsten ist und eine steilere Oral- und eine flachere Aboralfläche besitzt. An der Basis der Aboralfläche des Bügels fand ich fast stets eine Reihe kleiner, dicht über der

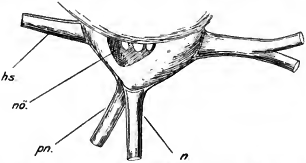


Fig. 2. Galea von *Coelodendrum ramosissimum*. Durch die weite, an der Oralfläche der Galea gelegene Nasenöffnung hindurch sieht man die kleinen, arkadenähnlichen Poren an der Basis der Aboralfläche.
n Nasaldendrit. *pn* Postnasaldendrit. *hs* Hauptseitendendriten. *nö* Nasenöffnung.

Schalenklappe gelegener Fensteröffnungen, welche durch schmale Pfeiler voneinander getrennt sind und so ein Arkaden-ähnliches Ansehen gewähren. Bei sehr kleinen Exemplaren waren zuweilen auch an der Basis der Oralfläche unregelmäßige Fensteröffnungen zu sehen, in ähnlicher Weise, wie dies schon R. Hertwig für diese Art abgebildet hat (1879, tab. 10, fig. 12 a), bei den meisten, namentlich aber bei allen größeren Exemplaren fand ich dagegen an der Basis der Oralfläche eine einzige große und weite Torbildung, welche als Nasenöffnung bezeichnet werden mag (*nö*).

Über die Bedeutung der Galea kann bei diesen sphärischen Formen kein Zweifel bestehen. Sie tritt uns hier offenbar als ein Postament für die vier noch annähernd gleich stark entwickelten und im allgemeinen paarweise in zwei aufeinander senkrechten Ebenen angeordneten Dendriten (Nasal-, Postnasal-, zwei Hauptseitendendriten) entgegen. Es läßt sich auch ohne weiteres erkennen, daß

der Bau der Galea selbst und die Anordnnng der radialen Skelettelemente eine solche ist, daß sämtliche von letzteren auf die Schalenklappe ausgeübten Druckwirkungen, mit Ausnahme der in die Apikalachse fallenden, sich gegenseitig aufheben. Die Druckverteilung ist also eine derartige, daß bei einer wechselnden Vergrößerung nnd Verkleinerung des Centralkapselvolumens, wie sie nach den Ergebnissen bei anderen Formen anch für die Coelodendriden, speziell bei der vertikalen Wanderung, angenommen werden muß, das Auseinanderweichen nnd Zusammentreten der inneren Schalenklappen stets in der Richtung der Apikalachse vor sich geht.

Bei der Weiterentwicklung des einfachen wnlst- oder bügelförmigen Galeatypns, wie er sich bei den kleineren sphärischen *Coelodendrum*-Arten findet, haben nun offenbar zwei Faktoren die Hauptrolle gespielt, nämlich 1. die Gestaltveränderungen des Gesamtkörpers und 2. die Übernahme einer Nebenfunktion ernährungsphysiologischer Art durch die Galea.

Wie bei den meisten anderen Tripyleengruppen sehen wir auch bei den Coelodendriden nnd Coelographiden, daß im Gegensatz zu den kleineren, meist sphärisch gestalteten Oberflächenbewohnern die in größeren Tiefen vorkommenden Formen zugleich mit der Zunahme des Volnmens verschiedenartige Abweichungen von der Kugelgestalt erfahren. Insbesondere findet sich, offenbar im Interesse eines erhöhten Steig- und Sinkvermögens, bei zahlreichen Formen eine mehr oder weniger seitlich abgeplattete Gestalt, so besitzen z. B. *Coelodendrum flabellatum* (Fig. 3) und *Coelodiceras spinosum* (Fig. 4) einen beil- oder schmetterlingsförmigen Weichkörperumriß, bei *Coelographis* und einigen nächstverwandten Gattungen herrscht, wie wir sahen, die Gestalt einer seitlich zusammengedrückten Pyramide vor usw.

Diese Veränderungen in der Gestalt des Gesamtkörpers sind nun ihrerseits bedingt durch eine ungleich starke Ansbildung einzelner radiärer Skelettelemente. So kommt der schmetterlingsförmige Umriß des Weichkörpers von *Coelodendrum flabellatum* mit seinen flügelartigen Anhängen dadurch zustande, daß der Stamm des Postnasaldendriten außerordentlich verlängert ist nnd seine zunächst dichotomische Verzweigung erst nahe der Peripherie ihren Anfang nimmt (Fig. 3). Ähnliche Verhältnisse liegen bei der Gattung *Coelodiceras* vor, bei welcher die Verlängerung des Nasalstachels bereits mit einem Übergang zum Griffeltypus verbnnden ist (Fig. 4), und am weitesten ist die Umgestaltung des Weichkörpers auf Grund einseitiger Entwicklung einzelner Radialelemente bei der Unterfamilie der Coeloplegminen gediehen, innerhalb welcher, je nach der Zahl der griffelartig differen-

zierten Skelettelemente, alle Übergänge von der Pyramidenform zur Sternform angetroffen werden.

Mit der einseitigen Entwicklung einzelner Radialröhren hängt nun weiterhin die Umgestaltung der Galea zusammen. In zahlreichen anderen Tripyleengruppen sind die Radialstacheln nicht direkt der Gitterschale eingepflanzt, vielmehr erheben sie sich entweder auf zeltförmigen Schalenaufsätzen oder auf kegelförmigen, meist von

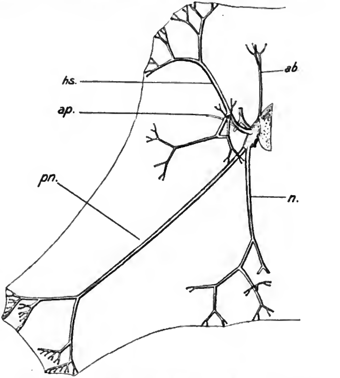


Fig. 3. *Coelodendrum flabellatum.* Halbes Skelett.
n, pn, hs, ap, ab Nasal-, Postnasal-, Hauptseiten, Apikal- und Aboraldendrit.

fensterartigen Poren durchbrochenen Ausstülpungen der Schalenwandung. Die Bedeutung aller dieser Bildungen, für welche einerseits die Sagosphäriden, andererseits die Castanelliden, Circoporiden nnd Tuscaroriden zahlreiche Beispiele liefern, liegt offenbar darin, daß ein von den Terminalbildungen des Radialstachels aufgenommener und durch seinen Schaft weitergeleiteter Druck oder Stoß durch die Basalzelte und Basalkegel möglichst gleichmäßig nach allen Seiten

auf die Gitterschale verteilt wird. Ganz das nämliche findet sich aber bei den Coelodendriden und Coelographiden. Es zeigt sich, daß immer diejenigen Teile der Galea, welchen die am stärksten entwickelten Radialelemente aufsitzen, eine meist kegelförmige Erweiterung aufweisen, so daß die Gestalt der Galea durch die Zahl und das gegenseitige Größenverhältnis der besonders differenzierten Radialstacheln bestimmt wird. Bei *Coelodendrum flabellatum* z. B. (Fig. 3), bei welchem speziell der Postnasaldendrit eine bedeutende

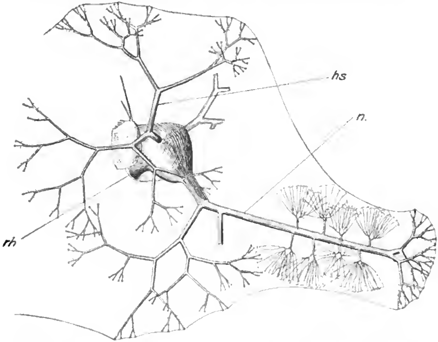


Fig. 4. *Coelodiceras spinosum* n. gen. n. sp. Die Galea im Verhältnis zur inneren Schalenklappe mächtig entwickelt.
n Nasalgriffel. *hs* Hauptseitendendrit. *rh* Rhinocanna.

Verlängerung aufweist, ist die Galea nach der Oralseite schuppenförmig ausgezogen; bei *Coelothyrsus* (Fig. 5 u. 6) ist entsprechend der starken Entwicklung der paarigen Hauptseitengriffel der orale Teil der Galea ambosförmig vorgezogen und in der Mittellinie vielfach eingekerbt (Fig. 6), so daß jeder der Griffel auf einer besonderen Vorwölbung aufsitzt; bei *Coelodrymus lanceolatus* (Fig. 7) finden wir die Galea ungefähr in gleichem Maße nach der Basis der Nasal- und

der Hauptseitendendriten ausgezogen, während *Coelechinus* (Fig. 8) insofern ein interessantes Gegenstück hierzu bildet, als, entsprechend

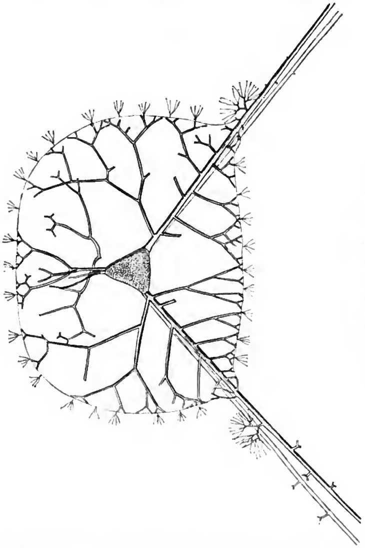


Fig. 5. *Coelothyrsus cypripedium* n. gen. n. sp.

der gleichmäßigen Entwicklung der Hauptseiten- und des Aboraldendriten die Galea eine breit abgestutzte, ambosartig vorge-

zogene Stirnkante und eine kegelförmig von der Schalenklappe abgehobene und durch einen oder mehrere besondere Pfeiler gestützte Aboralecke besitzt. Bei den Coeloplegminen (Fig. 1 u. 9) schließlich macht sich die ungleiche Entwicklung der einzelnen Radialelemente in ganz besonders charakteristischer Weise geltend: der mächtig entwickelte Nasalgriffel (*n*), unterstützt durch den schwächeren Postnasaldendriten (*pm*), bewirkt eine sehr starke kegelförmige Verlängerung der Galea gegen die Oralseite, die weniger kräftig ausgebildeten Hauptseitendendriten (*hs*) sitzen ihrerseits etwas flacheren Erhebungen der Galea auf und selbst der schwache Aboraldendrit (*ab*) scheint

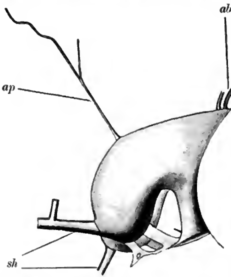


Fig. 6. Galea von *Coelothyrsus cypripedium*.

nicht ohne Einfluß auf die Bildung der Galea zu sein, so daß dieselbe in Oberflächenansicht einen sehr charakteristischen, rautenartigen Umriß erhält. Besondere Verhältnisse liegen bei *Coelodiceras macropylum* (Fig. 10) vor, bei welchem die im Vergleich zur Schalenklappe ungeheure Entwicklung der ganzen Galea das kegelförmige Auswachsen einzelner Stachelbasen überflüssig zu machen scheint.

Neben der Veränderung der Gesamtgestalt und der sie bedingenden ungleichmäßigen Entwicklung der Radialstacheln spielt nun noch, wie bereits oben angedeutet wurde, ein anderer Faktor bei der Umbildung der Galea eine Rolle, nämlich die Übernahme einer ernährungsphysiologischen Aufgabe. Es möge zunächst der morpho-

logischen Umwandlung gedacht werden, welche die Öffnungen der Galea in den verschiedenen Reihen der Coelodendriden und Coelographiden erfahren haben. Es wurde bereits früher erwähnt, daß bei kleinen Exemplaren von *Coelodendrum ramosissimum* die Galea an der Basis ihrer Aboralfläche fast stets eine Reihe arkadenähnlich angeordneter Fensteröffnungen besitzt und daß bei größeren Exemplaren (Fig. 2) sich gewöhnlich an der oralen Böschung eine größere, meist halbmondförmige Nasenöffnung befindet. Auf ähnliche Verhältnisse, wie bei den größeren Exemplaren von *C. ramosissimum* stößt man auch bei den übrigen *Coelodendrum*-Arten, nur daß nicht selten (so bei *C. spinosissimum* und *furcatissimum*) der obere Rand der Nasenöffnung eine wulstartige Verdickung, die erste Andeutung der Rhinocanna, erhält (vgl. Fig. 3).

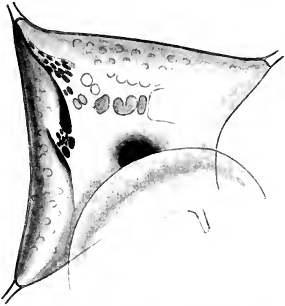


Fig. 7. Galea von *Coelodrymus lanceolatus* n. sp. von der Oralseite.

Bei einer ganzen Reihe von neuen Formen, die sich in der „Valdivia"-Ausbeute vorfanden, ist ferner die Wandung der Galea in der oberen und seitlichen Peripherie der sehr weiten und hohen Nasenöffnung krempenartig vorgezogen, so daß ein eigentlicher Torbogen entsteht. Dies ist der Fall bei *Coelodecas pumilio* n. sp. (Fig. 11), bei *Coelotetraceras xanthacanthum* n. gen. n. sp. (Fig. 12) und bei

Coelodiceras macropylum n. gen. n. sp. (Fig. 10). Speziell bei *Coelotetraceras* ziehen sich von dem wulstigen Rande der Nasenöffnung jederseits ein oder zwei dünne Spangen gegen die Basen der Hauptseitengriffel hin und stellen so die ersten Andeutungen von Frenulis

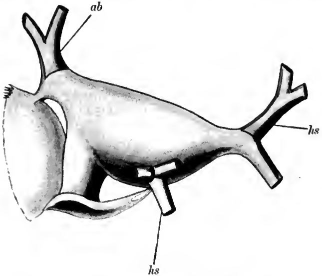


Fig. 8. Galea von *Coelechinus wapiticornis* n. gen. n. sp.

dar und etwas stärker finden wir diese Bildungen bei *Coelodiceras macropylum* entwickelt. Etwas abweichende Verhältnisse fand ich bei einer *Coelodrymus*-Art (Fig. 7), bei welcher die Oral- oder Stirnfläche der im ganzen pyramidenförmigen Galea großenteils von einem dreieckigen, gefensterten Vorbau eingenommen wird, welcher der Rhinocanna anderer Formen entspricht und an seiner Basis die kraterförmige Nasenöffnung trägt.

Innerhalb der Gattungen *Coelodecas* und *Coelodiceras* sehen wir sodann die Umbildung des Torbogens zur rohrförmigen Rhinocanna fortschreiten, insbesondere ist bei *Coelodiceras spinosum* eine eigentliche, wenn auch nur kurze, schnauzenartige Rhinocanna ausgebildet (Fig. 4, *rh.*). Auch bei mehreren anderen Formen, z. B. bei *Coelanthemum auloceroides* n. gen. n. sp. (Fig. 13) ist an der noch sehr steilen Galea eine verhältnismäßig kurze und weite, schnauzenartige Rhinocanna angebracht. In dem Maße aber, als die orale Partie der Galea mehr und mehr ambosartig vorgezogen wird, verlängert sich auch die Rhinocanna zu einem bis an den oralen Rand der

Schalenklappe reichenden Rohr, dessen krempenartig aufgewulsteter Öffnungsrand durch die nunmehr breiter und fester werdenden Kieselbrücken mit der Stirnfläche der Galea verbunden ist (Fig. 1).

In der Tat scheint ein engerer Zusammenhang zwischen der ambosartigen Vorwölbung der Galea und der Ausbildung der Rhinocanna zu bestehen. Denn einerseits wird offenbar durch die Vergrößerung der Nasenöffnung die Oral- oder Stirnfläche der Galea geschwächt, so daß eine kegelförmige Ausbildung der Stachelbasen um so notwendiger erscheint, andererseits dienen umgekehrt der umgekrempte Rand der Nasenöffnung und die von ihm nach der Stirnfläche der Galea ziehenden Kieselbrücken dazu, den vorgeschobenen Teil der Galea abzustützen und einen Teil des von den Griffeln aufgenommenen Druckes abzuleiten.

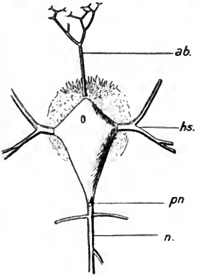


Fig. 9. Galea von *Coelographis antarctica* in Apikalansicht.

Nachdem wir die allmähliche Umwandlung der einfachen Nasenöffnung zur rohrförmigen Rhinocanna verfolgt haben, bleibt noch die Frage zur Beantwortung über, welche Bedeutung der Galeahöhlung und Rhinocanna der Coelographiden zukommt?

Es ist hier in erster Linie auf die eigentümliche Verteilung der Phäodellen, d. h. der die Nahrungsteile einschließenden und verdauenden Sekrettropfen, im Weichkörper der Coelodendriden und Coelographiden hinzuweisen. In beiden Gruppen findet man, im Gegensatz zu den meisten übrigen Tripyleen, eine außerordentlich wechselnde Anordnung der Phäodellen. So ist z. B. bei *Coelodendrum furcatissimum* bald die ganze Zentralkapsel von einer dichten Phäodiummasse umhüllt, bald sind die Phäodellen hauptsächlich in der Astropylengegend, bald fast ausschließlich in der äußersten Weichkörperschicht angeordnet. Eine bestimmte Regel war nicht zu ermitteln, insbesondere gaben die verhältnismäßig wenig zahlreichen Schließnetzfänge keinen Aufschluß darüber, ob vielleicht ein gewisser Zusammenhang zwischen der Tiefe des Vorkommens und der Verteilung des Phäodiums

besteht. Im Gegensatz zu der Gattung *Coelodendrum* findet sich nun bei den Formen mit wohlausgebildeter Galea und Rhinocanna das Phäodium fast stets auf den Innenraum der Galea und auf die Oberflächenschicht des Weichkörpers (Fig. 1, *ph*) konzentriert, die Galea dient hier also offenbar als vorübergehendes Depot für die Phäodellen. Nun weist aber andererseits das Vorhandensein einer Rhinocanna, also einer Verbindungsröhre zwischen Astropylengegend und Galeahöhle darauf hin, daß es sich bei der Aufbewahrung der Phäodellen in der Galeahöhle nicht um ein mehr zufälliges, sondern um ein durchaus regelmäßiges Verhältnis handeln muß und daß also hier eine bestimmte, mit der Verdauung im Zusammenhang stehende Zirkulation vorliegt.

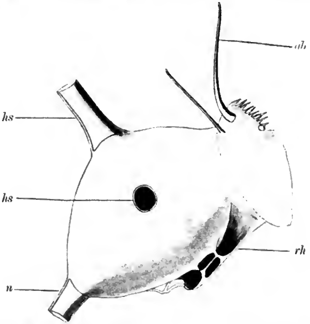


Fig. 10. Galea von *Coelodiceras macropylum* n. gen. n. sp. schräg von hinten.

Eine solche bestimmt geregelte Zirkulation läßt sich auch bei anderen Tripylen nachweisen. Ein besonders schönes Beispiel hierfür lieferte mir eine skelettlose, herzförmige, seitlich zusammengedrückte und mit zwei Centralkapseln ausgestattete (dicystine) Form, von welcher zahlreiche Individuen in der südindischen Station 170 in einer Tiefe von 1700—1000 Metern gefischt wurden. Bei dieser

vorläufig als *Phaeocolla valdiviae* bezeichneten Form (Fig. 14), von welcher es ungewiß ist, ob sie nicht die nackte Jugendform einer dicystinen Aulacanthiden-Art darstellt, finden sich zwischen den beiden Centralkapseln vorzugsweise freie, d. h. noch nicht von den Sekrettropfen eingeschlossene Nahrungskörper; am oralen Rande waren hauptsächlich kleinere dunkel tingierbare Sekrettropfen mit eingeschlossenen Diatomeen und Nacktalgen (*a*), längs der seitlichen Ränder der Scheibe größere blassere Tropfen (*b*) und am aboralen Rande sehr große Gallertvakuolen (*c*) und „gefaltete Membranen" (*d*),

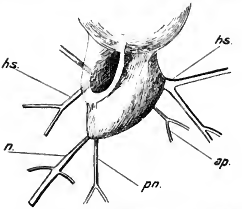


Fig. 11. Galea von *Coelodecas pumilio* n. sp. Schrägansicht.

d. h. durch Wirkung der Reagenzien deformierte Vakuolen, vorhanden. Hier ist mit Sicherheit zu erkennen, daß die aufgenommenen Nahrungsteile in den mittleren Partien des Weichkörpers von wahrscheinlich schleimartigen Sekrettropfen umschlossen werden und daß die so gebildeten Phäodellen, während der Verdauung der Nahrung und unter gleichzeitiger Überführung des Sekretes aus einem tingierbaren, vielleicht mehr schleimigen in einen blassen, gallertigen Zustand,[1]) in einer Art von „Fontänenstrom"[2]) nach den seitlichen und schließlich nach dem Hinterrande der Weichkörperscheibe befördert werden.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse gelangt man zu

[1]) In ähnlicher Weise kann z. B. in den Hautdrüsenzellen von Annelidenlarven die Umwandlung von Schleimtropfen in Gallertmassen stufenweise verfolgt werden.

[2]) Ähnlich der bekannten Fontäneströmung mit rückläufigen Randströmen, wie sie bei verschiedenen Amöben beobachtet worden ist (Rhumbler), nur daß bei *Phaeocolla* die Fontäneströmung nicht mit der Fortbewegung des ganzen Körpers verbunden ist.

folgenden Anschauungen bezüglich der Bedeutung von Galeahöhle und Rhinocanna.

Wie die Radialstacheln der Coelodendriden und Coelographiden selber, so ist auch die ihnen als Postament dienende Galea im Interesse der Material- und Gewichtsersparnis nicht als massiver,

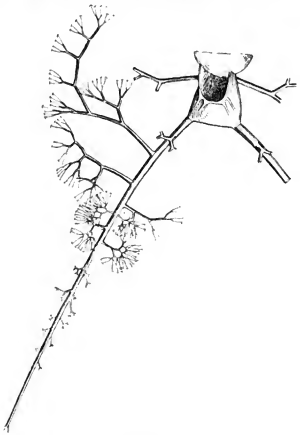


Fig. 12.
Galea und ein Hauptseitendendrit von *Coelotetraceras xanthacanthum* n. gen. n. sp.

sondern als hohler, dünnwandiger Körper zur Ausbildung gelangt. Das nämliche Interesse der Material- und Gewichtsersparnis erfordert es aber, daß der von der Galea eingenommene, mit der weitergehenden Spezialisierung des Skelettes immer größer werdende Raum

nicht unausgenützt bleibt und so wird mehr und mehr, unter Ausbildung einer einzigen großen Nasenöffnung an Stelle der zahlreichen unregelmäßigen Fensterporen dieser Raum den Phäodellen zugänglich gemacht. Die damit verbundene Schwächung der oralen Galeawandung wird nun kompensiert, zum Teil, wie wir gesehen haben, durch kegelförmiges Vorwachsen der Stachelbasen, zum Teil aber durch Ausbildung eines wulst- oder krempenartigen Torbogens.

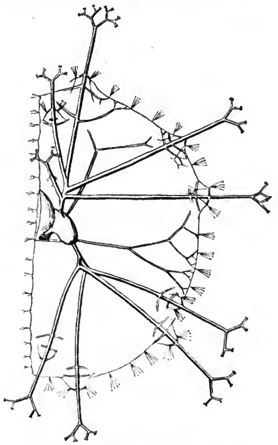


Fig. 13. *Coelanthemum auloceroides* n. gen. n. sp.

Mehr und mehr wird dann, ähnlich wie dies bei *Phaeocolla* der Fall ist, der Säftestrom in bestimmte Bahnen geleitet: die zunächst nur als Postament dienende Galea erhält neben ihrer ursprünglichen Be-

deutung diejenige einer Verdauungshöhle und, um die Zuleitung des Säftestroms auf direktem Wege und in bestimmtgerichteter Weise zu regulieren, wird sie durch die stärker auswachsende Rhinocanna

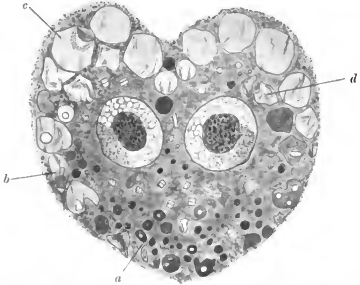


Fig. 14. *Phacocolla valdiviae* n. sp. Durch die Buchstaben *a—d* sind die successiven Umwandlungsstufen der Phäodellen bezeichnet.

direkt mit der Astropylengegend, d. h. mit der Stelle, wo Nahrungspartikel und Kernsekrete zusammenstoßen, verbunden.

Fassen wir das Bisherige zusammen, so läßt sich sagen, daß die Bedeutung der Galea eine doppelte ist: sie dient als ein Postament für die Radialstacheln und gleichzeitig als ein vorübergehendes Depot für die Phäodellen und damit als eine Art Verdauungsraum. Ihre besondere Gestalt ist bedingt durch die ungleiche Entwicklung der einzelnen Radialelemente und also indirekt durch die Gestalt und die statischen Verhältnisse der ganzen Zelle.

Es wurde ferner im speziellen gezeigt, daß hinsichtlich der Ausbildung der Nasenöffnung alle Übergänge von einfachen fenster- und torbogenartigen Öffnungen zu ausgesprochenen Rhinocannen mit aufgekremptem Öffnungsrande und regelmäßig ausgebildeten Frenulis

bestehen. Dies führt uns zunächst zu einer kurzen systematischen Betrachtung. Nach HÄCKEL sollen sich die beiden Familien der Coelodendriden und Coelographiden dadurch unterscheiden, daß bei ersteren die Rhinocanna fehlt und die Radialstacheln niemals als Griffel ausgebildet sind. Nun wurde aber, wie gesagt, der Nachweis geführt, daß sich innerhalb der beiden Gruppen sämtliche Übergangsstufen zwischen einer einfachen Nasenöffnung und einer wohlausgebildeten Rhinocanna vorfinden und ferner ließ sich an der Hand einiger neuer, der „Valdivia"-Ausbeute entstammender Formen zeigen, daß Rhinocanna und Griffelröhren hinsichtlich ihres Ausbildungsgrades keineswegs in einem streng korrelativen Verhältnis zueinander stehen. Es sei nur an den antarktischen *Coelechinus wapiticornis* erinnert, welcher im Bau der als Dendriten ausgebildeten Radialstacheln im wesentlichen mit den sphärischen *Coelodendrum*-Arten übereinstimmt,[1]) während er hinsichtlich der Beschaffenheit der Galea mit einigen griffeltragenden Formen eine größere Übereinstimmung zeigt (Fig. 8). Ich halte es daher für angebracht, die Coelodendriden und Coelographiden in einer einzigen Familie (Coelodendridae) zu vereinigen und innerhalb derselben eine Anzahl von Unterfamilien zu unterscheiden, von welchen vier dem HÄCKEL-schen System entnommen sind.

Ebenso wie sich zwischen den beiden HÄCKEL'schen Familien im ganzen keine Trennung durchführen läßt, so zeigt sich auch, daß innerhalb der kleineren Abteilungen die einzelnen Formen fast durchweg gleitend ineinander übergehen, so daß eine scharfe Auseinanderhaltung der Arten und selbst der bisher als Gattungen bezeichneten Formengruppen vielfach unmöglich ist. Insbesondere läßt sich für jeden einzelnen Skeletteil, sei es in dieser, sei es in jener Unterfamilie, der Nachweis führen, daß eine ganz allmähliche Umbildung Platz gegriffen haben muß, und andererseits liegen in keinem Fall zuverlässige Stützen für die Auffassung vor, daß an irgend einer Stelle eine sprungweise Entwicklung, wenigstens im Sinne der DE VRIES'schen Mutationen, stattgefunden habe. So sei hinsichtlich der kontinuierlichen Entwicklung von Galea und Rhinocanna nochmals auf die Gattungen *Coelodendrum* und *Coelodiceras* hingewiesen; ferner läßt sich die allmähliche Herausbildung der äußeren Gitterschale, insbesondere die Umwandlung eines groben, aus oblongen Maschen bestehenden Gitters in ein dichtes Netzwerk mit kleinen, polygonalen Maschen, innerhalb der einen

[1]) Vergl. Verh. Deutsch. Zool. Ges. 1904, p. 124 fig. 1.

Gattung *Coelographis* verfolgen; bei *Coelographis* und *Coelotetraceras* treten ferner individuelle Schwankungen hinsichtlich der Zahl der zu *Griffeln* umgebildeten Skelettröhren hervor; innerhalb der Gattung *Coelodecas* sind die *Terminalbildungen* der Griffel hinsichtlich der Zahl, Länge und Bedornung der Endäste außerordentlichen Verschiedenheiten unterworfen, ohne daß aber an irgend einer Stelle ein wirkliches, als Sprung aufzufassendes Novum eingetreten wäre; bei *Coelodiceras* schließlich finden sich deutliche Übergänge zwischen dendritenförmigen Seitenästen und ankertragenden Seitenbäumchen. Kurz, es muß für jedes einzelne Merkmal wenigstens innerhalb einiger Formenreihen eine *kontinuierliche Entwicklung* angenommen werden und spätere Untersuchungen werden sicher dazu führen, daß manche jetzt noch bestehende Lücke geschlossen werden kann. Sind doch allein schon in dem Material der „Valdivia"-Ausbeute eine sehr große Anzahl von bisher fehlenden Verbindungsgliedern aufgefunden worden!

Eine Zeitlang bin ich der Ansicht gewesen, daß die individuellen Verschiedenheiten, welche manche Tripylenarten, insbesondere viele Tuscaroren, hinsichtlich der *Zahl der Radialstacheln* aufweisen, vielleicht als Mutationen im Sinne de Vries' bezeichnet werden können.[1] Da indessen wenigstens in *einem* Falle innerhalb einer Tuscarorenkolonie nebeneinander Individuen von verschiedener Stachelzahl gefunden wurden, so ist es sehr unsicher geworden, ob diesen Varianten die für die Mutationen charakteristische Eigenschaft der Erblichkeit zukommt, und andererseits zeigen gerade unsere Coelodendriden und Coelographiden hinsichtlich der Zahl und des Ausbildungsgrades der Radialstacheln sehr weitgehende individuelle Schwankungen beziehungsweise Übergänge zwischen Dendriten und Griffelröhren,[2] so daß also auch bei diesen Formen eher an eine variative, als an eine mutative Vergrößerung beziehungsweise Verminderung der Stachelzahl gedacht werden muß.

Alles in allem scheinen mir also die Coelodendriden und Coelographiden ein besonders schönes Beispiel für eine kontinuierliche, zum Teil vielleicht durch korrelative Beziehungen einseitig beschleunigte Umwandlung darzustellen.

Was nun fernerhin die Beziehungen der Coelodendriden und Coelographiden zu anderen Radiolariengruppen anbelangt, so möge zu-

[1] Verh. Zool. Ges. 1904, p. 143.

[2] Siehe unten die Beschreibung von *Coelographis antarctica*. Auch bei *Coeloplegma murrayanum* und bei *Coelotetraceras* kehren ähnliche Verhältnisse wieder.

nächst ganz kurz auf die weitgehende Konvergenz hingewiesen werden, welche die am meisten spezialisierten Formen, insbesondere *Coelanthemum* (Fig. 13), mit manchen Astrosphäriden aufweisen.

Innerhalb der Ordnung der Tripyleen drängt sich sodann in erster Linie ein Vergleich unserer Gruppe mit den gleichfalls zweiklappigen Conchariden auf. Indessen stellt es sich bei näherer Betrachtung der Schalenstruktur und der radiären Skelettelemente heraus, daß zwischen den Coelodendriden und Coelographiden einerseits und den Conchariden andererseits keine weitergehende Übereinstimmung besteht und ich möchte es daher nicht für angezeigt halten, nach dem Vorgang Häckel's die drei Gruppen in einer und derselben Abteilung (Phaeoconchia) zu vereinigen. Vielmehr scheint es mir zweckmäßig zu sein, für die erweiterte Familie der Coelodendriden eine besondere Unterordnung, die der Phaeodendria, aufzustellen.

Viel nähere Beziehungen, als zu den Conchariden, bestehen, namentlich was den Bau, die Verzweigungsweise und die radiäre Anordnung der Hauptskelettelemente anbelangt, zu den Aulacanthiden und zu der neuen Familie der Astracanthiden,[1]) welch letztere von den Aulacanthiden dadurch unterschieden sind, daß die hohlen Radialstacheln im Centrum des Weichkörpers zusammenstoßen und zu einem Stern verbunden sind.

Ein in statischer Hinsicht besonders interessanter Gegensatz tritt uns allerdings beim Vergleich mit den eben genannten Familien in den Weg, nämlich die verschiedene Art und Weise, in welcher der Übergang aus der sphärischen in die bilateral-symmetrische Form vollzogen, beziehungsweise der Versuch gemacht wird, der Konkurrenz, welche zwischen Centralkapsel und radiären Skelettstrukturen bezüglich des Weichkörpercentrums besteht, gerecht zu werden.

Bekanntlich wird bei vielen Spumellarien, sowie bei den Acantharien dieser Gegensatz in der Weise ausgeglichen, daß die central gelegene Centralkapsel von den Radialstacheln durchbohrt wird. Dagegen schlagen die genannten Tripyleenfamilien sehr verschiedene Wege ein und zwar zeigen speziell die Astracanthiden und die Gruppe der Coelodendriden und Coelographiden extreme Verhältnisse. Während nämlich bei den ersteren die hohlen Radialstacheln im Centrum des Tieres zusammenstoßen und hier miteinander zu einem Stern ver-

[1]) V. Häcker: Über einige große Tiefsee-Radiolarien. Zool. Anz. Bd. 30, 1906, p. 888.

kittet sind und während bei ihnen durch die Verdopplung der aus dem Centrum verdrängten Centralkapsel ein Gleichgewichtszustand wiederhergestellt wird, sehen wir bei den Coelodendriden und Coelographiden ein umgekehrtes Verhältnis: die Centralkapsel behauptet ihren Platz in der Mitte des Weichkörpers und dafür sind die radialen Skelettelemente auf zwei Centren konzentriert. Eine dritte Abweichung von der monocentrischen Anordnung und zwar, rein morphologisch betrachtet, eine Art Zwischenstufe zwischen dem Verhalten der Astracanthiden und der Coelodendriden-Coelographiden, findet sich bei den dicystinen, d. h. regelmäßig mit zwei Centralkapseln ausgestatteten Aulacanthiden (*Aulographis pandora* u. a.). Hier findet man vielfach, wenn auch nicht immer, daß neben der Duplizität der Zentralkapseln auch die Radialstacheln eine ausgeprägt dicentrische Anordnung aufweisen.[1])

Während im ganzen die radiären Skelettelemente der Coelodendriden und Coelographiden mit den Radialstacheln der Aulacanthiden und Astracanthiden verglichen werden können und auch die äußere Gitterschale in den subterminalen Astquirlen speziell der Gattung *Aulospathis* ein gewisses Homologon findet, läßt sich für die inneren Schalenklappen der ersteren wenigstens bei den Aulacanthiden und Astracanthiden kein unmittelbares Gegenstück nachweisen. Indessen scheinen mir auch diese Gebilde innerhalb des Formenkreises der Tripyleen kein vollständiges Novum darzustellen, vielmehr möchte ich es für wahrscheinlich halten, daß dieselben als Homologa der provisorischen (embryonalen) Kieselhüllen der Centralkapseln der Challengeriden und Medusettiden (speziell von *Challengeria Naresi* und *Planktonetta atlantica*) anzusehen sind.

Es möge im Anschluß an die stammesgeschichtliche Entwicklung noch eines letzten Punktes, nämlich der ontogenetischen Entstehung des Skelettes der Coelodendriden gedacht werden. Obwohl mir vollständige Entwicklungsreihen fehlen, so vermag ich doch auf Grund zahlreicher Einzelbefunde so viel auszusagen, daß das hochspezialisierte Skelett auch dieser Formen von einer häutigen

[1]) Bei all diesen Beziehungen, welche die Skelettstrukturen einerseits der Coelodendriden und Coelographiden, andererseits der Astracanthiden und Aulacanthiden zueinander zeigen, kann es nicht wundernehmen, wenn sich sehr weitgehende Konvergenzen zwischen den beiden Gruppen herausgebildet haben. So erinnert z. B. *Coelanthemum auloceroides* (Fig. 13) im ganzen Aufbau sehr an die Aulacanthiden-Gattungen *Auloceros* und *Aulokleptes*, oder wenn man die äußere Gitterschale mit den subterminalen Astquirlen der Radialstacheln vergleichen will, an manche Formen der Gattung *Aulospathis*.

Grundlage seinen Ausgang nimmt und daß dabei der nämliche Komplex von Wachstums-, Sprossungs- und Abscheidungsprozessen wirksam ist, dem auch bei den Anlacanthiden und anderen einfacher gebauten Formen die Skelettbildung zugrunde liegt. Auf die Rolle, welche der Kern bei diesen Prozessen spielen dürfte, gedenke ich an anderer Stelle ausführlicher zurückzukommen, hier möchte ich nur kurz auf den interessanten Gegensatz hinweisen, in welchem der große, monoton gebaute, aus über tausend gleichförmigen Chromosomen zusammengesetzte und nur an einzelnen Punkten mit dem extrakapsulären Protoplasma in direkter Verbindung stehende Tripyleenkern und der anisotrope, nach verschiedenen Richtungen zu verschiedenartigen Differenzierungen befähigte extrakapsuläre Weichkörper zueinander stehen. Ich zweifle nicht daran, daß die Kernplasmabeziehungen im weitesten funktionellen Sinne (im „Gegensatz zu der zunächst morphologischen, dimensionalen „Kernplasmarelation" im ursprünglichen Sinne R. Hertwig's) in der polychromosomalen, mehrseitig differenzierten Radiolarienzelle noch andere sind als in der oligo- und heterochromosomalen, meist einseitig differenzierten Metazoenzelle und daß also auch die Ergebnisse der von Verworn eingeleiteten Versuche an *Thalassicolla*, welche hoffentlich bald eine Wiederholung finden, nicht ohne weiteres auf die Metazoenzelle übertragen werden können.

Anhang. Übersicht über die in der „Valdivia"-Ausbeute gefundenen neuen Formen.

Unterordnung: **Phaeodendria.**

Tripyleen (Phäodarien) mit zweiklappiger, der Centralkapsel dicht anliegender innerer Schale und mit hohlen Radialstacheln, welche helmartigen Aufsätzen der inneren Schalenklappen eingepflanzt sind.

Familie: *Coelodendridae sens. lat.*

1. Unterfamilie: *Coelodorinae.*

Coelodendriden mit Nasal- und Hauptseitenstacheln, meist ohne eigentliche Rhinocanna. Ohne äußere Gitterschale. Hierher: *Coelodoras* Häckel und *Coelodendrum* Häckel.

Coelodiceras n. gen.

Galea im Verhältnis znr Schalenklappe sehr groß, ambosförmig, mit weiter, torbogenartiger oder mit kurzer, schnauzenartiger Rhinocanna. Nasalstachel als Griffel ansgebildet, Hauptseitendendriten stark verzweigt und breit ausladend.

C. spinosum n. sp. (Fig. 4).

Körper parallel zur Apikalebene zusammengedrückt, schmetterlingsförmig. Galea plump-ambosförmig, mit kurzer schnauzenartiger Rhinocanna. Nasalgriffel 2—2,2 mm lang, nahe der Basis stumpfwinklig abgebogen, im basalen Viertel mit zwei größeren Seitendendriten, in der distalen Hälfte mit 10—12 ankertragenden Seitenbäumchen und mit dichotomisch verzweigter, mit zurückgekrümmten Dornen besetzter Terminalbildung. Ankerfädchen mit zwei sichelförmigen Terminalankern nnd einer snbterminalen Gruppe von kurzen Zähnchen.

In den südlichen Teilen des Atlantik und Indik verbreitet.

C. macropylum n. sp. (Fig. 10.)

Von voriger Form unterschieden durch die weite und kurze, torbogenartige Rhinocanna (*rh*), durch die längeren (3 mm laugen) Nasalgriffel, die schwächere Bedornnng der Terminalbildungen und das Fehlen der subterminalen Zähnchen an den Ankerfäden.

Ein Exemplar aus dem nördlichen Indik.

2. Unterfamilie: *Coelotholinae.*

Coelodendriden ohne Nasalstacheln, mit Hauptseiten- und Aboralstacheln, mit meist gut entwickelter Rhinocanna und zwei Frenulis. Ohne äußere Gitterschale. Hierher die Gattungen: *Coelotholus* Häckel, *Coelothauma* Häckel und *Coelothamnus* Häckel.

Coelechinus n. gen.

Galea ambosförmig, mit breiter Stirnkante, mit typischer Rhinocanna und zwei Frennlis. Jede Galea mit drei Dendriten (zwei Hanptseiten- und einem Aboraldendrit).

C. wapiticornis n. sp. (Fig. 8.)

V. Häcker, Verh. dentsch. Zool. Ges., 1904 S. 123f., Fig. 1.

Die drei Dendriten 5—7 mal gegabelt. Die Gablung ist meist dichotomisch, doch gehen von der ersten Gablnngsstelle in der Regel

drei Hauptäste ab. Die Endsprossen bilden schmale Gabeln, sie sind zugespitzt und mit freien Dornen besetzt.

Durchmesser: 2,2—2,8 mm.

Diese in der Antarktis sehr häufige Form zeigt eine weitgehende Konvergenz mit dem circäquatorialen, in den wärmeren Meeresgebieten sehr häufigen *Coelodendrum furcatissimum*, für welches sie im südlichen Eismeer vikarierend eintritt.

Coelotetraceras n. gen.

Galea ambosförmig. Nasenöffnung hoch und weit, mit wulstigem Rande, Frenula schwach entwickelt, spangenartig. Hauptseitenstachel als Griffel, Aboralstachel als Dendrit entwickelt.

C. xanthacanthum n. sp. (Fig. 12.)

Hauptseitengriffel mit zwei größeren, in Ankerfädchen auslaufenden Seitenästen und 8—20 kleineren, ankertragenden Seitenbäumchen. Spitzen der Griffel stets gelblich, wahrscheinlich in ankertragende Endbüschel auslaufend.

Bedeutende individuelle Größenunterschiede. Länge der Hauptseitengriffel 0,8—2,4 mm.

In T. St. 54, 112, 218, 239, 268 gefischt, also im ganzen in wärmeren Meeresteilen vorkommend.

3. Unterfamilie: *Coelodryminae.*

Coelodendriden mit Nasal- und Hauptseitendendriten und mit verschieden stark entwickelter Rhinocanna. Äußere Gitterschale vorhanden. Hierher: *Coelodasea* Häckel.

Coelodrymus Häckel.

Gitterschale einfach.

C. lanceolatus n. sp. (Fig. 7.)

Galea pyramidenförmig. Die Rhinocanna stellt einen dreieckigen, gefensterten Vorbau dar, welcher an seiner Basis die kraterförmige Nasenöffnung trägt.

Nasalstachel, Hauptseitenstacheln und der schwächer entwickelte Aboralstachel sämtlich als Dendriten entwickelt. Ankerfädchen wellig, denen von *C. anchoratus* Häckel ähnlich.

Durchmesser: 4 mm.

Fundort: T. St. 54 (Guineastrom).

4. Unterfamilie. *Coelothyrsinae.*

Coelodendriden ohne Nasalgriffel, mit Hauptseitengriffeln und mit kurzen Apikal- nnd Aboraldendriten. Mit gut entwickelter Rhinocanna und mit zwei Frennlis. Äußere Gitterschale vorhanden.

Coelothyrsus n. gen.

Mit den Merkmalen der Unterfamilie.

Coelothyrsus cypripedium n. sp. (Fig. 5, 6.)

Gestalt sphärisch bis ellipsoidisch.

Galea ambosförmig, stark nach der Oralseite ausgezogen, in Seitenansicht an die Blüten mancher Labiaten oder Orchideen erinnernd (Fig. 6), hänfig mit eingebnchteter Stirnkante nnd mit im ganzen dreieckiger Oberfläche. Rhinocanna rohrförmig.

Die zwei Hanptseitenröhren jeder Galea sind als außerordentlich verlängerte (mindestens 7 mm lange) Griffel entwickelt. Sie geben innerhalb der änßeren Gitterschale zehn bis fünfzehn Seitendendriten ab, anßerhalb der ersteren zahlreiche in drei Längsreihen angeordnete Seitenbäumchen (die Spitzen waren bei sämtlichen Exemplaren abgebrochen). Ein oder zwei Aboraldendriten. Ankerfädchen ähnlich denen von *Coelodrymus.*

Durchmesser eines sphärischen Exemplars 3, längster und kürzester Durchmesser eines ellipsoidischen Exemplars 3,5 nnd 3 mm.

Fundorte: T. St. 14, 32, 88, 91, 102, 112, 174, 175, 215, 218. In den wärmeren nnd kühleren Gebieten des Atlantik und Indik verbreitete Form.

5. Unterfamilie. *Coeloplegminae.*

Coelodendriden mit Nasalgriffeln nnd Hauptseitengriffeln, mit ambosförmiger Galea nnd meist gut entwickelter Rhinocanna, mit einem Frenulum nnd mit äußerer Gitterschale.

Hierher: *Coeloplegma* Häckel, *Coelospathis* Häckel, *Coelostylus* Häckel, *Coelagalma* Häckel.

Coelographis Häckel.

C. acuta n. sp.

Nasalgriffel stark verlängert, mit nacktem, sehr derbwandigem, spießartigem Endabschnitt. Maschen des Gitterwerks vielfach rechteckig. Höhe der äußeren Gitterschale nur 1,5 mm.

T. St. 32 und 85.

C. pusilla n. sp.

Nasalgriffel an der Basis stark abgebogen und infolgedessen außerhalb der Gitterschale stark divergierend, innerhalb der Gitterschale nur mit 3 Paar Seitenästen, außerhalb mit 5 Paar Seitenbäumchen. Endabschnitt nackt, mit zwei dichotomisch gegabelten Ästen und fingerförmigen, fein bedornten Endsprossen.

Höhe der Gitterschale nur 1 mm.

Nördlicher Indik.

C. regina Häckel.

Diese Art fasse ich beträchtlich weiter als Häckel, da sich an denselben Fundorten alle Übergänge zwischen nahezu gleichseitig-dreieckigen, zwischen gestreckt-gleichschenklig-dreieckigen Formen mit tiefem aboralem Schalenausschnitt und zwischen kleinen, pfeilförmigen Typen mit gewölbten Längsseiten und mit mehr oder weniger tiefem aboralem Ausschnitt fanden. Auch die Zahl der inneren Seitenäste der Nasalgriffel (12—30) ist großen individuellen Schwankungen unterworfen.

Offenbar triozeanische (circäquatoriale) Bewohnerin der warmen Meeresteile, an zahlreichen Stationen des tropischen Atlantik und Indik, zum Teil in großer Menge gefischt.

C. palmata n. sp. (Fig. 15a und b.)

? *Coelographis gracillima* Borgert, 1903.

Terminaläste glatt und mehr oder weniger flächenhaft angeordnet.

Vom Außenrand des Benguelastroms.

C. coronata n. sp. (Fig. 16.)

Terminalbildung der Nasalgriffel flach-kronenförmig mit vier regelmäßig angeordneten, je zweimal gegabelten Ästen. Die Endsprossen sind glatt, entweder zugespitzt oder unterhalb der Spitze mit einem Kranz von vier Dornen versehen (an die Verzweigung der Radialstacheln von *Aulokleptes flosculus tridentatus* erinnernd).

Aus dem Guineastrom.

C. antarctica n. sp. (Fig. 1, 9, 17.)

Von *C. regina* unterschieden durch den breitlanzettförmigen oder nahezu pentagonalen (*Coelodecas*-ähnlichen) Schalenumriß, durch die

meist ausgesprochen kronenartige Ausbreitung der gewöhnlich glatten, kurzen Terminaläste des Nasalgriffels (Fig. 17), und durch die verschiedengradige Neigung der ersten Seitenäste der Hauptseitengriffel zur Griffelbildung (Übergang zum *Coelodecas*-Typus).

In der Antarktis häufig.



Fig. 15a.



Fig. 15b.

Coelographis palmata n. sp.

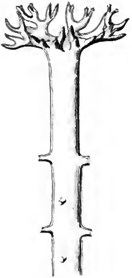


Fig. 16.

Coelographis coronata n. sp.

Coelodecas Häckel.

C. pumilio n. sp. (Fig. 11.)

Umriß breit-eiförmig. Rhinocanna weit und kurz, torbogenartig. Griffel stark verlängert mit stark divergierenden, nahe dem Ende zweimal dichotomisch gegabelten Terminalästen. Endsprossen kurz, knospenförmig.

Höhe der Gitterschale: 1,3 mm.

Fundort: Nördlicher Indik.

C. furcata n. sp. (Fig. 18.)

Im ganzen der sehr häufigen *C. de castyla* Häckel ähnlich, jedoch tragen die Griffel eine Krone mit vier oder fünf fingerförmigen,

glatten, einfachen Endästen, welche an ihrem Ende einen Kranz von vier kurzen, nach außen gerichteten Dornen aufweisen.

Benguelastrom.

C. pygmaea n. sp. (Fig. 19.)

Schalenumriß breit-eiförmig. Griffel mit zwei-, seltener dreimal gegabelten Terminalästen. Die Endsprossen sind sehr lang und schlank, meist wellig gebogen (Fig. 19, links), in ihrer ganzen Länge (Fig. 19, links) oder nur teilweise (Fig. 19, rechts) mit zurückgekrümmten Haken und am Ende mit einer stempelförmigen Verbreitung versehen, welche drei bis fünf kräftige, nach außen gerichtete Zähne trägt.

Höhe der Gitterschale: 1,3—1,5 mm.

Fundorte: T. St. 32, 49, 115, 218.

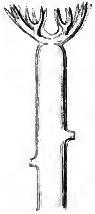


Fig. 17.
Coelographis antarctica n. sp.



Fig. 18.
Coelodecas furcata n. sp.

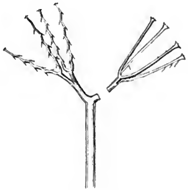


Fig. 19.
Coelodecas pygmaea n. sp.

C. ambulacrum n. sp. (Fig. 20.)

Ausgezeichnet durch die außerordentlich reiche Verzweigung und zierliche Form der Terminalkronen. Diese bestehen aus zwei Terminalästen, welche sich ihrerseits in der Regel viermal dichotomisch gabeln. Die 32 Endsprossen sind verhältnismäßig lang und schlank, mitunter wellig gebogen, mit einigen wenigen kräftigen,

zurückgekrümmten oder gerade abstehenden Seitenhaken und einer flachen, von 5—6 Zähnchen gebildeten Endspathille ausgestattet.

Schalenhöhe: 1,8 mm.

Fundorte: T. St. 142, 149 (Antarktis).

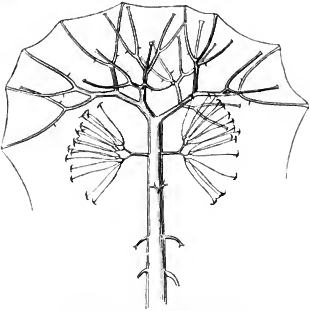


Fig. 20. *Coelodecas ambulacrum* n. sp.

Coelanthemum n. gen.

Nasalstachel in vier, jeder der beiden Hauptseitenstacheln in fünf Griffel gespalten. Im ganzen also 28 Griffel.

C. auloceroides n. sp. (Fig. 13.)

Körper sternförmig. Galea steil-ambosförmig, fast vollständig in der oralen Hälfte der Schalenklappe gelegen, mit kurzer und weiter Rhinocanna und einem Frenulum. Die Verästelung der sämtlichen Griffel ist eine sehr regelmäßige und einfache: innerhalb der Gitterschale geht ein Paar, auf der Höhe der Gitterschale ein zweites Paar von Spangen ab und außerhalb der Gitterschale ist nur ein Paar Seitenbäumchen vorhanden, welche mit ihren zurückgebogenen fadenförmigen Verzweigungen eine flache Kuppel bilden. Die Terminal-

bildungen bestehen aus zwei ein- oder zweimal gegabelten Ästen, deren fein bedornte Endsprossen zwei oder drei kleine Terminalknöpfe tragen. Im ganzen in der Anordnung des Skeletts und insbesondere der Radialelemente sehr an *Auloceros*, *Aulospathis* und andere Aulacanthiden erinnernd.

Durchmesser der äußeren Gitterschale 1,3, des ganzen Skeletts 1,9 mm.

Fundort: T. St. 268 (Nördlicher Indik, 2 Exemplare).

Stuttgart, Dezember 1906.

Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien bei den Trichien und Arcyrien.

Von

Helene Kränzlin.

(Hierzu Tafel IV und 7 Textfiguren.)

Inhalt.

Einleitung.

Die Bildung der Sporangien eines Myxomyceten aus dem Plasmodium ist in vieler Hinsicht von Interesse. Das formlose Plasmodium erscheint an der Luft und baut in verhältnismäßig kurzer Zeit Fruchtkörper von hoher Entwicklung auf. Es ist ein Vorgang, der in der Welt der Organismen einzig dasteht. Viele Fragen knüpfen sich daran. Wie verhält sich das nackte Plasma gegen die Luft? Was für Strömungen finden in seinem Innern statt? Wie wird der Stiel der einzelnen Sporangien gebildet? Auf welche Weise entstehen die Elateren? und viele andere Fragen.

Bei einzelnen Familien sind Angaben vorhanden. Die Stemoniteen haben de Bary (1) und Jahn (2) untersucht. Das Plasmodium zerfällt hier in Tröpfchen, die künftigen Sporangien. Jedes Tröpfchen legt in seinem Inneren einen Stiel an, setzt ihn nach oben fort und klettert dann an diesem Stiel empor. Das fertige Sporangium gleicht einem Bäumchen, in dessen Astwerk die Sporen sitzen. —

Bei den Cribrarien ist der Vorgang ganz anders. Das Tröpfchen sondert eine Membran ab, schnürt diese ein und bildet schließlich, nachdem alles Plasma aus dem so entstandenen Stiel nach oben gezogen ist, seine Sporen in einem schief an dem Stiel hängenden Köpfchen.

Über *Trichia fallax* liegen Angaben von Strasburger (3) vor. Der Vorgang der Sporangienbildung hat hier einige Ähnlichkeit mit dem bei den Cribrarien.

Ich habe die Gattungen *Trichia* und *Arcyria* gewählt, die in gewissem Sinne die höchststehenden unter den Myxomyceten sind. Da Strasburger's Arbeit aus einer frühen Zeit stammt, mußte damals vieles trotz sorgfältiger Untersuchung dunkel bleiben, was mit den heutigen Mitteln der mikroskopischen Technik wohl aufgefunden werden konnte.

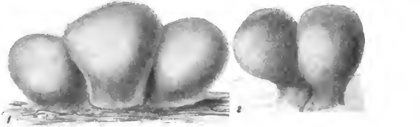
Das Material war zum größten Teil von Herrn Dr. Jahn im Laufe der Jahre gesammelt. Es war in Flemming's verdünnter Lösung fixiert und in Alkohol aufbewahrt. Für den Teil I der Arbeit kamen Mikrotomschnitte von 5—10 μ Dicke zur Anwendung, die nach Flemming'scher Methode gefärbt wurden. Da sich die meisten Arten nicht kultivieren lassen, fehlen für die Arcyrien Entwicklungsstadien fast ganz. Die zu den folgenden Untersuchungen benutzten Serien gewann ich dadurch, daß ich im Walde selbst fixierte oder die Sporangienhäufchen auf dem Substrat vorsichtig nach Hause beförderte. Nur einmal gelang es mir, *Oligonema nitens*

zu kultivieren. Die auf feuchtgehaltenem Kaninchenmist ausgelegten Sporen bildeten hier plötzlich, nachdem sie wochenlang keinerlei Lebenszeichen gegeben hatten, an mehreren Stellen zugleich Häufchen von Fruchtkörpern von glänzend weißer Farbe und beträchtlicher Größe, die im Laufe eines Tages, soweit sie nicht fixiert wurden, sich zu leuchtend goldgelben Sporangien entwickelten.

I. Teil.

Das Plasma.

Ich beginne mit *Arcyria cinerea* (vgl. Textfig. I). Das junge, sich eben aus dem Plasmodium absondernde Sporangium zeigt die





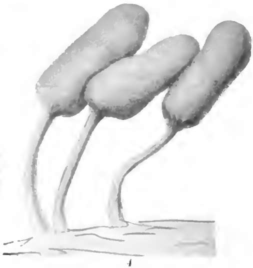


Fig I, 1—4.
Entwicklungsstadien der Sporangien von *Arcyria cinerea*.
Vergr. 30 : 1.

Gestalt eines Tropfens. Allmählich erhebt sich die Kugel- zur Cylinderform, und der untere Teil wird eingeschnürt. Das geschieht dadurch, daß die Hauptmasse des Plasmas aus ihm nach oben wandert.

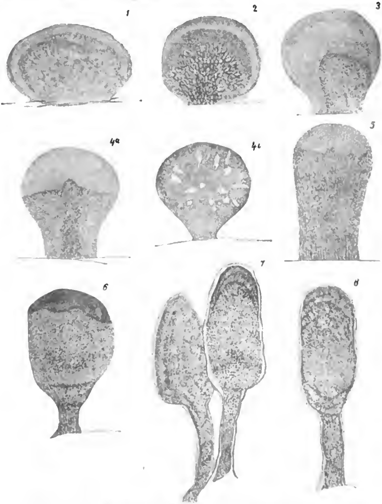


Fig. II, 1—8. Längsschnitte durch Entwicklungsstadien der Sporangien von *Arcyria cinerea*. Vergr. 40 : 1.

Nun zeigt der zurückbleibende Fuß des Cylinders Schrumpfungserscheinungen, und, seine Membran wie einen geschlossenen Regen-

schirm in Falten zusammenlegend, wächst er noch ein wenig in schwacher Torsion aufwärts. um schließlich als ein scheinbar echter Stiel das inzwischen wieder cylindrisch gewordene Sporanginm in die Luft zu erheben. In der Textfig. II, 1—8 sind Längsschnitte durch solche in der Entwicklung begriffene Sporangien dargestellt.

§ 1. Überblickt man die Figuren, so fällt auf, daß sich im Plasma dichtere nnd vakuolige Partien nnterscheiden lassen, nnd zwar findet sich das dichtere Plasma stets am Rande, während das vaknolige das ganze übrige Sporanginm ausfüllt. Daß die homogen erscheinende Schicht zuweilen als Mantel das ganze Sporangium einhüllt und zuweilen als Kappe nnr den oberen Teil einnimmt, hängt mit der Stellung des Sporangiums zn seinen Nachbarfrnchtkörpern zusammen. Es gehört zur Eigenart der meisten Arcyrien nnd Trichien, daß ihre Sporangien stets herdenweise auftreten. Stehen nun die Fruchtkörper eines Hänfchens so gedrängt, daß sie sich mit ihren Seiten untereinander berühren, so differenziert sich ans dem ganzen Haufen gleichsam nur eine Hülle homogenen Plasmas, und es zeigt sich im Längsschnitt durch einen solchen Haufen, daß die inmitten stehenden Sporangien nur in ihrem oberen Teile, die rechts begrenzten links und die links begrenzten rechts eine Schicht dichteren Plasmas aufweisen. Ganz eingeschlossene Sporangien werden dnrch die Abb. 4, 5, 6 (Textfig. II) veranschaulicht, während die Abb. 2, 3, 7 den Typus der teilweise begrenzten darstellen. Ein völlig isoliert dastehendes Sporangium findet sich nur in Abb. 1. Einen Grnnd für die Erscheinung dieser Kappenbildung anzugeben, scheint außerordentlich schwierig. Der Zweck dagegen leuchtet ein: das zarte, im Wachstnm begriffene Plasma bedarf einer widerstandsfähigen Anßenschicht, nm gegen aufliegende Insekten, herabfallende Tannennadeln usw. geschützt zu sein. Dem letzteren Zwecke scheint auch die schon von Strasburger erwähnte durchsichtige Cellulosehülle zu dienen, deren Schichten durch Anlagerung von innen nach außen gebildet werden. Ich komme später auf sie zurück.

§ 2. Eine weitere Beobachtung, die man beim Durchgehen der Fig. 1—8 (Textfig. II) macht, ist das wiederholte Auftreten eines axilen Stranges im vakuoligen Plasma (vgl. Abb. 2, 4a u. 5). Er erklärt sich wahrscheinlich folgendermaßen. Das Plasma setzt im Sporanginm seine im Plasmodium leicht zu beobachtende Bewegung fort, d. h. es flutet vorwärts, steht still, ebbt etwas zurück nnd flutet weiter. Am stärksten ist diese Bewegung naturgemäß in der Wachstnmsrichtnng des Sporangiums; es ist also erklärlich, daß die Plasma-

stränge in der Region, die später den langen Stiel liefern soll, stärker und die Saftvakuolen straffer gerichtet sind als an den Rändern des kugel- oder cylinderförmigen Sporangiums. An zwei Stellen, bei 4a und bei 5, setzt sich der axile Strang mit seiner Spitze in die Kappe dichteren Plasmas hinein fort. Man hat den Eindruck, als mache das bewegtere, vakuolige Plasma der Achsenregion einen Vorstoß in das zähere der homogenen Kappe.

§ 3. Wenden wir unsere Aufmerksamkeit genauer der peripherischen homogenen Plasmaschicht zu, so fällt auf, daß sie nicht nur in verschiedener Stärke auftritt, sondern daß unter der äußeren Kappe zuweilen noch eine zweite (Textfig. II, Abb. 5) oder gar mehrere Kappen liegen (Abb. 7 u. 8), die voneinander durch stark vakuoliges Plasma getrennt sind. In Abb. 4 b fehlt diese Schicht ganz. Man kann annehmen, daß das an die Peripherie gelangte Plasma wenigstens vorübergehend aus der allgemeinen Bewegung ausscheidet. Die darunter liegenden schaumigen Massen drängen aber nach oben und durchsetzen mit ihren in der Wachstumsrichtung vorgehenden Saftvakuolen allmählich die hemmende, zähe Schicht. Etagenweise wird das homogene Plasma durch die Vakuolen abgespalten (Abb. 1, 7, 8) und wieder der Region des pulsierenden zugeführt, während das nunmehr an die Peripherie gelangte vakuolige Plasma seinerseits sich zu einer homogenen Außenschicht verdichtet. Die Wahrscheinlichkeit dieser Annahme wird noch durch ein Stadium wie 4b erhöht, das während der periodischen völligen Auflösung seines homogenen Mantels gezeichnet ist.

§ 4. Tritt man der Frage näher, „welche Mittel wendet der einzelne Fruchtkörper auf, um aus der flachen Tropfenform zu der eines schlanken Cylinders auf noch schlankerem Stiele zu gelangen,“ so richtet sich die Aufmerksamkeit natürlich auf die Entwicklung des Stieles. Dieser zeigt von allen Teilen des Sporangiums die geringste Ähnlichkeit mit der ursprünglichen Tropfenform und muß demgemäß die größten Veränderungen erfahren haben. Daß eine Einfaltung vorlag, ergab schon die genaue makroskopische Betrachtung. Ein in Querschnitte zerlegtes Sporangium zeigt kreisrunde, ein quergeschnittener Stiel stets zackige Umrißlinien. Jedenfalls muß es das Plasma sein, das den Stiel in Falten legt; und diese Faltung muß vom Plasma aus genau reguliert werden, damit ein aufrechter, gleichmäßig dicker Stiel zustande kommt. Man sieht auf Fig. 1 u. 2 der Tafel IV, daß die Membran in stumpfen Winkeln eingebuchtet ist, und daß zwischen den Winkeln regelmäßige Zacken hervortreten. Wie konnten diese aus der ursprünglich auch hier

bestehenden Kreislinie hervorgehen? Doch ohne Zweifel nur dadurch, daß sich Zugkräfte von einem Punkte der Peripherie zu einem benachbarten geltend machten. Und in der Tat findet man bei genauem Suchen in gut mit Safranin gefärbten Schnitten durch die Übergangsregion vom Stiel zum Sporangium von einer Einbuchtung zwischen zwei Zacken zur nächsten zarte Plasmastränge, denen eine derartige Funktion obzuliegen scheint. Der Schnitt durch *Arcyria cinerea* (Taf. IV Fig. 1) ist etwas tiefer durch den Stiel geführt als der auf Fig. 2 dargestellte durch *Trichia fallax*, was aus der krauseren Einfaltung von 1 zu sehen ist. Beide Abbildungen zeigen aber das Gemeinsame, daß von Bucht zu Bucht feine Fibrillen laufen. Die Plasmapartikelchen, die diese Fibrillen bilden, speichern stark Safranin; weiteres läßt sich ihrer außerordentlichen Zierlichkeit wegen nicht über sie aussagen. Ihre Bedeutung ist klar: sie dienen zur Regulierung der Stielfaltung. Im Verlauf der Sporangienbildung hat das Plasma einen starken Drang nach oben und strebt danach, die Stielregion zu verlassen (Textfig. II, 5). Es reißt die auf einen kleineren Durchmesser zurückweichende Stielmembran mit und faltet sie in regelmäßiger Weise ein, wie das vorher durch Anlage der Fibrillen vorbereitet ist. Ich nehme an, daß die in Textfig. II, 4 u. 5 zu beobachtende dunkle Bänderung in der Übergangsregion mit diesen Vorgängen in Beziehung zu setzen ist; auch das dicht über dem Fuße bei 6 sichtbare Band wird so zu deuten sein. Auf Querschnitten ist es mir nie geglückt, in dieser Tiefe noch Fibrillen zu sehen; doch beweist dies noch nicht ihre Nichtexistenz, denn es ist praktisch unausführbar, bei dem immerhin langen, völlig gleich dicken Stiele genau zu wissen, aus welcher Höhe der Schnitt ist, den man vor sich hat.

§ 5. Die eben beschriebenen Einfaltungsvorgänge betreffen aufs engste auch die Glashülle der Trichien und Arcyrien. Diese, aus einer der Cellulose ähnlichen Masse bestehende Schicht wird, wie wir seit Strasburger wissen, durch Anlagerung vom Plasma aus gebildet. Sie ist im Leben schön glasartig durchsichtig und überzieht wahrscheinlich zum Zweck des Schutzes das ganze Sporangium schon in seinen jugendlichen Stadien. Auf dem Scheitel des Sporangiums ist sie nur zart, während sie seitlich, besonders sobald ein Stiel besteht, eine kräftige Haut darstellt, die unten in den Hypothallus übergeht. Im Querschnitt zeigt sie durchweg einen lamellösen Bau (Fig. 3 auf Taf. IV). Strasburger macht in seiner vorhin schon erwähnten Arbeit S. 312 darauf aufmerksam, daß sich häufig zwischen den einzelnen Lamellen Reste degenerierten

Plasmas vorfänden. Ich kann diese Angabe wenigstens für die Stielregion bestätigen nnd erkläre sie folgendermaßen: Stellen wir nns vor, daß die Fibrillen von Bucht zu Bucht lebhafte Zugwirkungen ausüben, die, wie oben erwähnt, noch dnrch den Zug des Plasmas verstärkt werden, so kann es leicht kommen, daß die zu passiver Faltung gezwungene Glashülle genügend starke Falten wirft, nm ein dazwischenliegendes Plasmazipfelchen von der Falte, der es angehört, zu trennen. Lagert sich nun eine weitere Lamelle vom Plasma ausgehend, der Glashülle an, so ist das abgerissene Zipfelchen von jeglichem Zusammenhang mit der Hauptmasse abgeschnitten und muß, trotzdem es noch einige Zeit weiterlebt, zugrunde gehen. Dieser Vorgang ereignet sich zu verschiedenen Malen; denn da die nene Membranlamelle immer der jeweiligen Umrißlinie des Plasmakörpers entspricht, die Fibrillen aber ihre Tätigkeit fortsetzen, wird die Hülle immer von neuem genötigt, Falten zu schlagen, bis die endgültige Querschnittsform des Stieles erreicht ist. Ein Gegensatz zur Stielbildung der Cribrariaceen stellt sich heraus: nicht alles Plasma wird aus dem Stiel nach oben gezogen, vielmehr bleibt ein beträchtlicher Teil des Plasmas im Stiel zurück und wird der Sporenbildung entzogen. Zwar beteiligt es sich an allen im Sporangium erfolgenden Veränderungen, aber es liefert keine normalen einkernigen Sporen. Textfig. III, 1 zeigt ein Stück aus dem Sporangium, Textfig. III, 2 ein solches aus dem Stiel derselben *Arc. cin.* Während bei 1 die fast fertigen Sporen zwischen den Elateren liegen, sieht man bei 2 in stark kontrahiertem Znstande unförmige, vielkernige Klumpen liegen. Dieser Fall der Aufopferung, eigentlich zur Fortpflanzung befähigten Materials zum Zwecke der Stielbildung erinnert an Vorgänge bei weit primitiveren Organismen als die Myxomyceten sind, an die Acrasieen.

§ 6. In bezug auf die Stärke und Ausbildung ihrer Glashülle verhalten sich die Arcyrien und Trichien nicht völlig gleich. Auch innerhalb dieser Gattungen finden sich Verschiedenheiten der Glasmembran, die wohl wert wären, bei der systematischen Gruppierung der Arten eine Rolle zu spielen.

Vergleicht man ein reifes Arcyriensporangium mit dem einer *Trichia*, so fällt folgendes ins Auge: Die Arcyrien haben einen deutlich abgesetzten Kelch, aus dem das zarthäutige Sporangium aufsteigt, während den Trichien ein besonders differenzierter Becher am Grunde fehlt. Ihre ganze Hülle wird kelchartig angelegt nnd bei der Reife unregelmäßig dnrchbrochen. Die Untersnchung von Längsschnitten zeigt, daß die Arcyrien im allgemeinen ihr

Sporangium mit einer schwächeren Glashülle umgeben als die Trichien. Innerhalb der Gattung *Arcyria* haben naturgemäß die zarteren Arten wie *Arcyria pomiformis* auch zartere Glashüllen als z. B. *Arcyria nutans*. Die größere Länge des Stieles

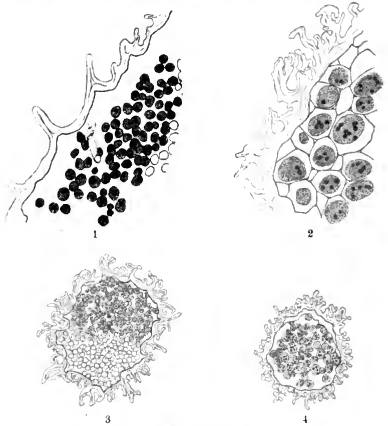


Fig. III, 1—4.
1) Stück aus dem Querschnitt durch ein Sporangium von *Arcyria cinerea*.
2) „ „ „ „ „ den Sporangienstiel von *Arcyria cinerea*.
3) Querschnitt durch die Übergangsregion vom Stiel zum Sporangium.
4) „ „ den Stiel von *Arcyria cinerea*.
Vergr. bei 1 u. 2 500 : 1. Vergr. bei 3 u. 4 200 : 1.

scheint bei gleicher Länge des Sporangiums eine stärkere Ausbildung der Glashülle zu bewirken. So findet sich bei *Arcyria incarnata* eine schwächere Glashülle als bei *Arcyria punicea*. Ist das Sporangium

auffallend kurz wie bei *Arcyria pomiformis*, so findet sich trotz eines langen Stieles nur eine sehr zarte Glasmembran. *Arcyria cinerea* und *nutans* haben mittelstarke Glashüllen. Eine Ausnahmestellung nimmt *Arcyria ferruginea* ein, die sich ja auch sonst noch durch ihre auffallend großen Sporen (9—11 μ) auszeichnet. Ihre Glashülle ist bedeutend stärker als die der anderen Arcyrien, so daß sie an die Trichien erinnert. — Die in der Systematik zwischen *Trichia* und *Arcyria* stehende Gattung *Hemitrichia* gehört auch in bezug auf ihre Glasmembran an diese Stelle. Textfig. IV veranschaulicht ein nahezu reifes Exemplar mit kräftig ausgebildetem Stiel, das im Begriff ist, seine Hülle zum Zweck der Sporenausstreuung zu sprengen. Die dünne Stelle in der nach oben zu immer schwächer werdenden Membran zeigt, daß die Sprengung mit einem Einriß am Scheitel beginnen wird. — Eine ebenso starke Ausbildung der Glasmembran wie *Hemitrichia*



Fig. IV. Längsschnitt durch *Hemitrichia clavata*. Vergr. 40 : 1.

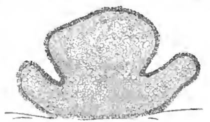


Fig. V. Medianer Längsschnitt durch *Perichaena populina*. Das Plasma ist segmenmentiert zur bevorstehenden Sporenbildung. Vergr. 20 : 1.

zeigt *Trichia fallax*, diejenige Trichiacee, die den längsten Stiel besitzt und sich dadurch makroskopisch von der sonst äußerlich ähnlichen *Trichia varia* unterscheidet. *Trichia varia* und *persimilis* mit sitzenden oder nur ganz kurz gestielten Sporangien haben auch entsprechend dünnere Glashäute. Ebenso zart, wenn auch verglichen mit Arcyrien immer noch ansehnlich, ist die Glashülle bei den in Haufen auftretenden Sporangien der Trichiacee *Oligonema nitens*.

Abseits in Form des Sporangiums wie in der Beschaffenheit der Glashülle steht die den Arcyriaceen nah verwandte Gattung *Perichaena*. Textfig. V zeigt einen medianen Längsschnitt durch ein fast reifes Sporangium von *Perichaena populina*. Das ganze Sporangium macht den Eindruck eines Hutes mit stark aufgebogener

Krämpe. Die Glasmembran ist hier sehr zart und umzieht nur als feines Häutchen den Fruchtkörper; aber an ihrer Außenseite scheidet sie eine stark körnige, sich gelblich färbende Schicht ab, die an die Kalkkörnchen in der Membran der Physareen erinnert. Da reife Perichaenensporangien stets den Eindruck einer offenen tiefen Schale machen, ist anzunehmen, daß bei der Sprengung der Hülle der ganze innere Teil, also der Kopf des Hutes, abgehoben wird.

II. Teil.

Die Kerne.

§ 1. Nach dem bisherigen Stande unserer Kenntnisse haben die Kerne im Entwicklungsgange eines Myxomyceten folgendes Schicksal: Bald nach der Keimung der Spore tritt eine Teilung der Schwärmer ein, bei der sich der Kern mitotisch teilt. Diese Teilung ist zuerst von Lister (4), später von Jahn (5) verfolgt worden. Es sprießt dabei, wie Jahn gezeigt hat, aus den Polen der Teilungsspindel je eine Geißel hervor, die den Tochterindividuen als Bewegungsorgan dient. Die stark färbbaren Punkte an den Spindelpolen, von denen die Geißeln ihren Ursprung nehmen, sieht Jahn als Centrosomen an. Es ist bemerkenswert, daß diese Teilung als eine regelmäßige, in der Entwicklung des lebenden Schwärmers selbst liegende erscheint. Sie setzt nicht etwa erst dann ein, wenn die Schwärmer durch Nahrungsaufnahme und Wachstum zu groß geworden sind, sondern sie erfolgt gleichmäßig bei allen bestimmte Zeit nach der Keimung. Schon de Bary hat angegeben, daß bei *Didymium* noch in der Sporenhülle eine solche Teilung stattfindet. Jahn's Beobachtungen beziehen sich auf *Stemonitis flaccida*. Lister (p. 540) hält es nicht für ausgeschlossen, daß die Schwärmer sich mehrfach teilen. Über die schließliche Verwandlung der Schwärmer in Amöben wissen wir zurzeit noch nichts. Es steht nur fest, daß die plötzlich geißellos gewordenen Individuen sich zusammenrotten und ein Plasmodium bilden. In diesem Stadium erfolgen abermals mitotische Kernteilungen. Es war dies bei der oft beträchtlichen Größenzunahme der Plasmodien von vornherein anzunehmen; nachgewiesen ist es jedoch bis jetzt nur von Lister für *Badhamia utricularis*. Eine amitotische, direkte Kernteilung, die noch Lister in der vorher erwähnten Arbeit, allerdings unter Vorbehalt, für Plasmodien beschreibt und abbildet, findet sich, soweit meine Einsicht

reicht, bei den Myxomyceten nicht. Lister's Abbildung 2b scheint mir eine andere Deutung zu erfordern.

§ 2. Das Plasmodium bildet schließlich einzelne Sporangien aus, deren Kerne erst wieder unmittelbar vor der Sporenbildung zu einer mitotischen Teilung schreiten. Ich halte mich bei der folgenden Beschreibung dieses Vorganges an die Angaben von Harper (6) über *Fuligo varians*. Der ruhende Kern zeigt eine Membran, Chromatin und einen Nukleolus, der wie in den Schwärmern von einem hellen Hofe umgeben ist. Im Äquatorialstadium sieht Harper deutliche Spindeln mit stark färbbaren Polen; die Chromosomenzahl meint er bei *Fuligo* auf 12 festsetzen zu können. In den Polarplattenstadien konnte Harper die Chromosomen nicht mehr zählen, da sie alle gleichzeitig wandern und stets dicht zusammengedrängt liegen. Die Spindelpole bleiben noch geraume Zeit sichtbar, während der Nukleolus sehr früh schwindet. — Die Kernverhältnisse des Schwärmerstadiums und die des zur Sporenbildung schreitenden Sporangiums haben, wie aus dem Gesagten hervorgeht, genaue Bearbeitung erfahren; die dazwischen liegenden Entwicklungsstufen sind jedoch vollständig vernachlässigt worden. Die folgende Mitteilung hat den Zweck, diese Lücke auszufüllen.

Auch für diese cytologischen Arbeiten benutzte ich zum größten Teil von Herrn Dr. Jahn gesammeltes Material. Die 5 μ starken Schnitte wurden nach Heidenhain gefärbt und aufs genaueste differenziert. Ich werde im folgenden die Kernvorgänge der *Arcyria cinerea* beschreiben, um den Vorteil zu haben, bei Angabe der Entwicklungsphase der Sporangien auf die als Textfiguren abgebildeten Längsschnitte verweisen zu können. Dieselben Untersuchungen wurden mit dem gleichen Resultate an *Arcyria nutans*, *Arcyria pomiformis*, *Trichia fallax*, *Trichia persimilis* und teilweise auch an *Oligonema* gemacht. Die Textfig. VI, 1—5 sind durch das Prisma gezeichnet.

§ 3. Das junge Sporangium in Tropfenform zeigt durchweg gleich große, stark färbbare Kerne. Das Chromatin darin ist so stark zusammengeballt, daß es fast nie glückt, einen Nukleolus oder sonst Struktureinzelheiten darin zu erkennen. Das Verhalten der Kerne ändert sich jedoch in den zur Cylinderform übergehenden Sporangien. Während sie im vorher erwähnten Stadium gleichmäßig durch den ganzen Plasmakörper verteilt sind, sieht man nun, daß sie in der Randregion (jedoch fast ausnahmslos um etwa zwei Kernbreiten von der Peripherie entfernt) näher zusammenrücken, so daß kernreichere und kernärmere Partien entstehen (vgl. Textfig. VI, 1). Der Chromatingehalt des Kernes lichtet sich etwas, so daß ein

Nukleolus sichtbar wird. Zwei Kerne nähern sich nun und legen sich Wand an Wand dicht zusammen (2). Ich glaube richtig zu gehen, wenn ich Lister's Fig. 2 b von *Trichia fragilis* auf eine der eben beschriebenen analoge Erscheinung deute. Die erst entfernt voneinander liegenden Nukleoli rücken ebenfalls nach der Berührungsstelle; alsbald sieht man die Wand aufgelöst und der Inhalt beider Kerne fließt zusammen (Textfig. VI, 3). Eine Zeitlang scheinen die zwei Nukleoli noch getrennt zu bleiben, bis sie schließlich zu einem

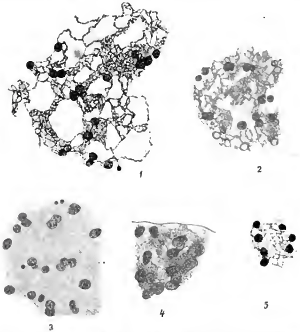


Fig. VI, 1—5. Fusionierende Kerne von *Arcyria cinerea* in verschiedenen Stadien. Vergr. 1000 : 1.

verschmelzen; wenigstens sieht man in einem Gesichtsfeld Fusionskerne mit zwei und mit einem Nukleolus. Vom Rande des Sporangiums aus schreitet die Fusion der Kerne nach der Mitte zu fort. Am spätesten fusionieren die Kerne der Axenregion, vermutlich weil das Plasma dort am lebhaftesten strömt. Der Fusionskern, der gleich nach dem Verschmelzungsakt nicht mehr als die zu erwartende Vergrößerung gezeigt hatte (3), beginnt einige Zeit danach mächtig anzuschwellen (4). Untersucht man ein Präparat dessen Stadium

dem Längsschnitt Textfig. II, 3 entspricht, so findet man am Rande Fusionskerne in der Phase der Textfig. VI, 4, in der Mitte noch kleine, unverschmolzene in der Phase der Textfig. VI, 5, während in der dazwischen liegenden Region in der Phase der Textfig. VI, 2 alle Übergänge zur Kopulation zu sehen sind. Wie zu erwarten ist, kommen nicht alle Kerne zur Verschmelzung mit einem anderen. Man sieht des öfteren, wie ein dritter Kern allein neben einem fusionierenden Paare liegen bleibt, oder auch wie zwei sich nähern, aber nicht bis zur Verschmelzung gelangen. Diese zurückgebliebenen Kerne sind dem Untergange geweiht. Ihr Nukleolus vergrößert sich übermäßig und färbt sich mit Safranin leuchtend rot, mit Hämatoxylin tief schwarz. Anfangs sind diese degenerierenden Kerne, wie Fig. 1, 2 u. 3 auf Taf. IV zeigen, von einem hellen Hof umgeben, sie verlieren diesen aber bald und werden kleiner und kleiner. Eine genau mit den meinen übereinstimmende Abbildung gibt Lister in der mehrfach erwähnten Arbeit in Abb. 3. Er führt die „small, deeply stained nuclear bodies" in seinem Untersuchungsregister merkwürdigerweise erst 12 Stunden nach dem ersten Auftauchen der Elateren an, ohne jedoch über ihren Ursprung Angaben zu machen. Die geschwollenen Fusionskerne nehmen (wieder vom Rande des Sporangiums nach der Mitte zu fortschreitend) allmählich wieder normale Größe an und zeigen nun lange Zeit ein höchst merkwürdiges, wenn auch leider unentwirrbares Chromatinnetz. Plötzlich sieht man sich aber dieses lichten, und es werden deutlich acht Doppelchromosomen sichtbar. Das folgende Stadium ist jedoch das merkwürdigste: man sieht neben den Kernen mit zählbaren Doppelchromosomen solche liegen, die ihr Chromatin nach oben und unten verlagert haben und in der Mitte eine weiße Gürtelregion zeigen. Ob alle Kerne dieses Stadium durchmachen, und wie es anfzufassen sei, ist mir leider unmöglich zu sagen. Jedenfalls mischt sich bald darauf das Chromatin in sämtlichen Kernen wieder derart, daß sich nichts mehr erkennen läßt. Dieser Zustand hält an, bis die Kerne zu der bekannten Karyokinese schreiten, die der Sporenbildung vorangeht.

Als was ist die Kernfusion mit ihren Folgestadien aufzufassen? und wie fügt sich diese Erscheinung in das, was bekannt war, ein?

§ 4. Ich führe in den Fig. 4—13 auf Taf. IV Kernbilder vor, die Einzelheiten aus den Textfig. VI, 1—5 veranschaulichen sollen und aus denselben Schnitten, zum Teil sogar aus demselben Gesichtsfelde wie diese stammen. Der Kern vor der Fusion (4) bietet nichts Interessantes, da seine Chromatinbestandteile unentwirrbar sind. Die Fusionsbilder 5 u. 6 sprechen für sich. Bei 7 fällt außer der be-

deutenden Größe auf, daß, obgleich die Fusion noch nicht vollendet ist, das Chromatin schon einen geordneteren Eindruck macht als bei 6. In 8 sieht man bei ebenfalls riesigem Volumen einen kleinen Nukleolus und zu langen Bändern gefügtes Chromatin. Ein noch fortgeschritteneres Stadium zeigt Fig. 9. Ich sehe in den beiden letzten Bildern (8 u. 9) ein „Synapsis“-Stadium. Ist die Synapsis als solche da, was aus den folgenden Bildern noch deutlicher hervorgeht, so ist mit einem Schlage aus der oben abgebildeten Kernfusion eine Kopulation geworden, und es fragt sich nun, welcher Art diese Kopulation ist. Offenbar hat man es hier mit einer totalen Karyogamie, und zwar einer Homogamie zu tun. Einen Unterschied zwischen den kopulierenden Kernen zu entdecken, ist mir nicht geglückt.

Ich bin nun ferner der Ansicht, daß auf die Karyogamie sofort eine Reduktion folgt. — Der lange Zeit geschwollen erscheinende Synapsiskern kommt allmählich auf eine normale Größe und zeigt nun plötzlich in häufig wiederkehrenden klaren Bildern das Stadium 10 u. 11. Die acht Doppelchromosomen wirken befremdend. Das Bild macht durchaus den Eindruck einer Diakinese, und man fühlt sich versucht, von den acht Doppelchromosomen je acht von einem der vorher verschmolzenen Kerne α und β abzuleiten. Das Bild würde dann das Stadium wiedergeben, wo die in der Synapsis vereinigt gewesenen, einander entsprechenden Chromosomen von α und β sich von einander lösen. Wenn Fig. 10 u. 11, wie nach dem Vergleich mit anderen Bildern anzunehmen ist, tatsächlich dieses Stadium darstellen, so wäre die Chromosomenzahl der 2x-Generation bei den Myxomyceten 16. — Es fällt nun auf, daß die jetzt zu erwartende Teilung ausbleibt. Der Kern hüllt sich bald nach diesem Stadium in völliges Dunkel. (Bilder wie Fig. 12 zeigen sich nicht so häufig, daß man sie mit Sicherheit als ein Folgestadium von Fig. 10 bezeichnen könnte.) Erst etwa 12 Stunden nach dem Auftauchen der Bilder 9 u. 10 tritt die Endkaryokinese auf. Wäre es mir hier gelungen, Vierergruppen oder Ringe zu entdecken, so würde ich nicht zögern, die oben skizzierte Annahme für richtig zu halten. Leider habe ich aber trotz reichlichen Materials an karyokinetischen Bildern dieses Stadiums niemals in die Einzelheiten des Vorganges eindringen können.

§ 5. Wenn ich trotzdem eine Vermutung äußern darf, so ist es diese: Die vor der Sporenbildung liegende Karyokinese ist als heterotypische aufzufassen; der Schwärmerteilung fällt die Reduktion der Chromosomen zu. Die Myxomyceten gehörten demnach zu den

wenigen Lebewesen, die fast während ihres ganzen Lebens mit 1 x-Chromosomen ausgestattet wären.

Es können manche Bedenken gegen die geäußerte Meinung aufsteigen. Man könnte sagen: so charakteristische Bilder wie Vierergruppen in der Spindel müßten, falls sie überhaupt vorhanden sind, zu sehen sein. Ich erwidere: das Vierergruppenstadium fällt aus. Die erste Teilung geht wahrscheinlich in Form einer Äquationsteilung vor sich. Die längsgespaltenen acht Chromosomen (reduzierte Zahl) verdicken sich nicht und brechen nicht durch eine transversale Teilung in vier Segmente auseinander, sondern sie behalten wahrscheinlich ihre Gestalt bei der ersten Teilung und trennen sich wie bei einer gewöhnlichen Mitose von der Mitte nach den Enden fortschreitend. In der zweiten Teilung, die erst nach beträchtlicher Pause erfolgt, nämlich im Schwärmerstadium, spalten sich die Chromosomen abermals längs im rechten Winkel zur ersten Teilungsebene und lassen so jedem neugebildeten Individuum nur die halbe Chromosomenzahl. Die eben ausgesprochene Annahme gründet sich auf folgende Tatsachen: Es steht fest, daß auf die Verschmelzung der Kerne ein Synapsisstadium folgt; ebenso sicher ist das Vorkommen der Diakinese. — Weiter ist zwar auffallend, aber doch völlig außer Zweifel, daß die Karyokinese, die der Sporenbildung voraufgeht, eine einfache ist, d. h. daß sämtliche Teilungsbilder auf einen einmaligen, bei allen Kernen gleichzeitig auftretenden Teilungsakt zurückgehen.

Es liegt nahe und scheint sogar erforderlich, die erste Schwärmerteilung an die genannte Karyokinese anzuschließen. Der Grund dafür ist die von Jahn mit völliger Sicherheit gemachte Angabe, daß die Teilung der Schwärmer bestimmte Zeit nach der Sporenkeimung resp. noch in der Sporenhülle eintritt und ganz unabhängig von den etwaigen Größenverhältnissen des Schwärmers ist. Daß bei Organismen, die eine regelmäßige Kopulation haben, an irgend einem Punkte des Zeugungskreises eine Reduktion stattfinden muß, ist heute erwiesen. Auch das Eintreten einer langen Pause zwischen beiden Teilungen und das Ausbleiben von Tetradenbildungen in der der Reduktionsteilung vorangehenden Karyokinese ist, nachdem Darstellungen wie die von Mewes (96) „Über die Entwicklung der männlichen Geschlechtszellen von *Salamandra*" und von McGregor über die „Spermatogenesis of *Amphiuma*" oder von Moore „Structural changes in the reproductive cells of Elasmobranchs" existieren, nichts Unerhörtes mehr. Befremdend aber und ungünstig für die aufgestellte Hypothese wirken die Bilder aus der Schwärmerteilung von *Stemonitis flacc.* in der erwähnten Arbeit von Jahn. Die Zahl

der den Tochterindividuen zugeteilten Chromosomen scheint hier (Fig. 2c u. 2g) 4 zu sein, während nach meiner Annahme die reduzierte Chromosomenzahl wenigstens für die Arcyrien und Trichien 8 zu sein scheint. Allerdings ist zu erwägen, daß die von Jahn abgebildeten Chromosomen einen stark gequollenen Eindruck machen, vielleicht also in Wirklichkeit in doppelter Zahl vorhanden sind. — Mit den geschilderten Eigentümlichkeiten der Myxomycetenkerne mag auch das Stadium 12 zusammenhängen, dessen Deutung mir bis jetzt nicht gelingt.

Die kleinen, stark färbbaren Kerne auf Fig. 1–3 Taf. IV, die aller Wahrscheinlichkeit nach als nicht kopulierte degenerieren, behalten, unabhängig von ihrer Lage im Sporangium und von den nach der Fusion stattfindenden Kernvorgängen ihr Volumen bei, bis sie zur Zeit der Sporenbildung vergehen (Fig. 13 Taf. IV).

§ 6. Die Karyogamie bei Myxomyceten ist schon von Lister und Prowazek beobachtet worden. Lister gibt in seiner Fig. 2b auf Taf. XXXV der erwähnten Arbeit ein ziemlich genaues Bild des Vorganges, nur sieht er darin ein Teilungsstadium. Es könnte auffallen, daß derselbe Beobachter bei der Untersuchung von 19 sorgfältig fixierten Stadien von *Trichia fallax* nicht die Karyogamie gesehen und als solche erkannt hat. Der Grund dafür liegt in der langen Pause, die er zwischen der 3. (9 Uhr p. m.) und 4. Fixierung (8,30 a. m.) hat eintreten lassen. Stadium 3 zeigt ihm ruhende Kerne und keine Elateren, während Stadium 4 bei scheinbar unveränderten Kernen schon deutliche Elateren in normaler Größe aufweist. Die Karyogamie findet meiner Erfahrung nach regelmäßig geraume Zeit vor der Elaterenbildung statt, bei *Arcyria cinerea*, wie oben bemerkt, sogar schon vor der Stielbildung des Sporangiums. Wahrscheinlich regulieren sich die beiden wichtigsten Funktionen im Leben des Myxomycetenfruchtkörpers, nämlich die Kernverschmelzung und die Elaterenbildung, so, daß die erstere eintritt, sobald die Vermehrung des Plasmas ihr Ende erreicht hat, also der Rauminhalt nicht mehr zunimmt, und daß die Elaterenbildung einsetzt, sobald das Sporangium seine endgültige Form hat.

Prowazek hat die Karyogamie nicht nur gesehen und abgebildet, sondern sie auch als solche erkannt. Seine Beobachtungen beziehen sich auf *Physarum psittacinum*. Die Wichtigkeit, die er seiner Beobachtung beilegt, ist jedoch nur gering. Er sieht in der Fusion der Kerne keinen zum Leben der Organismen notwendigen Akt und mißt ihr auch keine geschlechtliche Bedeutung zu. In seinen Augen ist die Fusion nichts als eine Kopulation zum Zwecke der

Regulierung und ist etwa der durch Hungereinfluß bewirkten Agglutinierung der Kerne von *Trichosphaerium* oder *Pelomyxa* gleichzusetzen.

III. Teil.

Die Elaterenbildung.

Das Material für die im folgenden mitgeteilten Untersuchungen lieferte die Trichiacee *Olignonema nitens.* Eines Morgens zeigten sich in einer der im botanischen Institut ausgestellten Schalen, in die einige Wochen zuvor Sporen ausgesät waren, junge, glänzend weiße Fruchtkörper. Ich fixierte in Zwischenräumen von $^1/_2$ Stunde 24 Stadien in Flemming's verdünnter Lösung und färbte später die 5 μ starken Schnitte mit Heidenhain oder Flemming. Die besseren Resultate gab die Heidenhain'sche Methode. Es stellte sich bald heraus, daß die Karyogamie bereits vorüber, dafür aber die Elaterenbildung im Gange war.

Unsere Kenntnis über diesen Gegenstand gründet sich auf Strasburger's Arbeit über *Trichia fallax.* Strasburger gibt an, daß die Elateren sich aus Saftvakuolen bilden, deren Wände durch Ablagerung von Mikrosomen aus dem Innern der Vakuole gebildet werden. Auch die spiraligen Bänder der Elateren sollen so entstehen. Meine Untersuchungen haben nicht die weitere Ausbildung der Elateren und ihre mechanischen Funktionen zum Gegenstand, sondern lediglich ihr Verhältnis zu den Kernen der Myxomyceten.

§ 1. Bei der Musterung der Serien von *Oligonema* zeigten sich neben den völlig undifferenzierten Kernen im Plasma eigentümliche Strahlungen. Bei den jüngeren Stadien lag im Centrum dieser Strahlungen ein Punkt, bei den späteren eine kreisförmige Scheibe, die als stark lichtbrechend, etwa wie die helle Mondscheibe an einem grauen Tageshimmel, ins Auge fiel. Die Strahlungen fanden sich in jedem Schnitt und Gesichtsfeld. In den Folgestadien schien die helle Scheibe inmitten eines stärker färbbaren Ringes zu liegen und war mit Körnchen angefüllt. Die Plasmastrahlen waren jetzt kürzer als vorher. In Nr. 12 der Schnittserie fanden sich bereits zur Sporenbildung segmentiertes Plasma und deutlich schwarzgefärbte Elateren; von Strahlung war nichts mehr zu sehen. Es handelte sich nun darum, Ursprung und Bedeutung der Plasmastrahlungen zu finden. Ich gebe in den Figuren 14—22 auf Taf. IV Bilder aus den Schnitten 1—13. Der Platzersparnis halber habe ich die Stadien 4, 6, 8, 10, die nur Wiederholungen boten, hier weggelassen. — Lange

nicht alles, was die Bilder zeigen, vermag ich zu deuten, setze sie aber trotzdem als getreue Wiedergabe der Befunde hierher, in der Hoffnung, daß vielleicht später sich ein Aufschluß findet.

Fig. 14 zeigt inmitten des vaknoligen Plasmas eine Sternform aus homogen erscheinendem; die Strahlen des Sternes sind genau radial auf den Mittelpunkt gerichtet, der wie ein kleiner, außerordentlich schwarzgefärbter Kern den Blick auf sich zieht. Am Rande des Sporangiums ist die Strahlung einseitig. 14 b aus einem anderen Schnitt zeigt offenbar schon ein fortgeschritteneres Stadium. Ob die inmitten der Scheibe liegenden drei Punkte durch Teilung oder Zerfall des vorher einheitlichen Mittelpnnktes entstanden sind, vermag ich nicht zu sagen.

Fig. 15 bringt ein äußerst wichtiges neues Moment: Im Plasma liegen frei, resp. an Fäden hängend, Chromatinstücke, die die typische Gestalt von Chromosomen haben; außerdem zeigt sich, daß die vorher bemerkte Strahlung nicht nur aus fein ausgezogenen Plasmastreifen besteht, sondern daß zarte, fibrillenartige Stränge vorhanden sind, die weit über die Plasmastrahlung hinausreichen. Die Chromosomen zeigen eine scharf umrissene rübchenartige Gestalt und sind teils um ein Centrum geschart, teils in einer langen Reihe angeordnet. Der Schnitt ist aus der Mitte des Sporangiums, während der Kern mit den dicken T-förmigen Chromosomen ans der Randgegend stammt. In einem erst zufällig ganz weiß gebeizten Schnitte fanden sich die Bilder 15 b. Natürlich vermutete ich, die bekannte Endkaryokinese vor mir zu sehen, wurde jedoch anderer Meinung, als ich den vorliegenden Schnitt mit meinen Arcyrien- und Trichienpräparaten verglich, die dieses Stadium aufweisen. Die Unterschiede waren bedeutend: Erstens tritt die Endkaryokinese bei allen Kernen fast gleichzeitig auf — hier waren etwa 3 Proz. der Kerne in Spindelform. Zweitens zeigen die Endkaryokinesen höchst selten die zugespitzte Form, gehen vielmehr sofort nnd für geraume Zeit in die Tonnenform über — hier war nicht eine Tonne zu sehen. Drittens war auffällig, daß niemals eine regelrechte zweipolige Spindel zu sehen war, sondern stets nur ein Pol mit deutlichem Polkörper, und endlich stellte sich heraus, daß entsprechend entfärbte Folgestadien keine Spur mehr von spindel- oder tonnenförmigen Karyokinesen zeigten.

Nach dem Abschluß der Untersuchungen über *Oligonema* ist es mir gelungen, in einer neuen Serie von *Arcyria*-Präparaten Bilder zu finden, die genau den eben beschriebenen entsprechen. Die Karyogamie war vorüber. Die Elaterenbildung scheint hier demnach

auf derselben Entwicklungsstufe und in derselben Weise zu erfolgen wie bei *Oligonema.*

§ 2. Meine Vermutung geht nun dahin: Ein Teil der kopulierten Kerne wird zur Elaterenbildung verwandt und macht zu diesem Zwecke eine heteropole Karyokinese durch. Nur aus einer Teilungsfigur können auch die rübchenförmigen Chromosomen stammen. Allerdings muß ich, um die im folgenden dargelegte Deutung geben zu können, eine kleine Umstellung der Stadien vornehmen. Der Wahrscheinlichkeit meine ich dadurch keinen Abbruch zu tun, da es wohl vorkommen kann, daß in einer großen Schar von Sporangien nicht

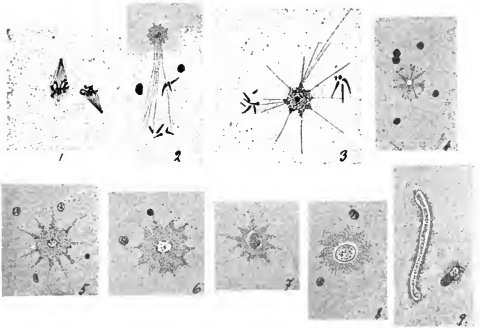


Fig. VII, 1—9. Stadien der Elaterenbildung bei *Oligonema nitens*, etwas schematisiert. Vergr. 1000 : 1.

alle gleich weit entwickelt sind, also das um 10 Uhr fixierte unter Umständen ein vorgeschritteneres Stadium zeigen kann als ein um 11 Uhr fixiertes. Die meine Deutung stützenden Bilder sind als Textfigur VII, 1—9 etwas schematisiert wiederholt.

Bild 1 zeigt, daß die Karyokinese nur e i n polige Spindeln liefert. Das Centrosom wird zum Strahlungscentrum und entfernt sich, die

Spindelfasern in die Länge ziehend, mehr und mehr von den passiven, stark angeschwollenen Chromosomen (2 u. 3). Allmählich vergrößert sich das Centrosom und vermindert gleichzeitig seine Färbbarkeit. Man hat den Eindruck, als ob es sich durch die Aufnahme von Plasmasaft aufblase (4 u. 5), während das vorher den Mittelpunkt bildende Chromatin in kleine Brocken zerstreut wird (5). Die nunmehr fertige Saftvakuole umgibt sich mit einer Region von homogenem Plasma, die strahlige Umrisse zeigt (6 u. 7). Mechanische Zwecke scheinen diese oft strangartig aussehenden Strahlen nicht zu haben; man hat in ihnen wohl nur den sichtbaren Ausdruck chemischer Beziehungen zwischen der sich immer mehr aufblähenden Vakuole und dem umgebenden Plasma zu sehen. — Die Tatsache, daß mit dem Beginn der Membranbildung die Saftvakuole aufhört, als Strahlungscentrum zu wirken (8), bestärkt diese Annahme. Die Chromosomen sind nur in den ersten Stadien zu sehen. Voraussichtlich gehen sie im Plasma des Sporangiums auf, wenn es auch häufig den Anschein erweckt, als leisteten sie dem Centrosom Gefolgschaft. Die weitere Entwicklung der Elateren bietet vom Standpunkt des Cytologen nichts Interessantes mehr. Sie ist auch aus der Arbeit von Strasburger hinreichend bekannt.

§ 3. Die Eigenart der geschilderten Vorgänge läßt es schwierig erscheinen, Anknüpfungspunkte für sie in der botanischen Literatur zu finden. Eine kernendogene Entstehung von Elateren ist schlechthin neu. — Faßt man jedoch den Begriff weiter und sieht in der Elatere nichts als eine (im phylogenetischen Sinne gesprochen) erstarrte Geißel, so tut sich ein weites Gebiet auf: Die Blepharoplastenliteratur.

Die Zoologen haben von zwei Punkten aus Forschungen über Blepharoplasten unternommen. Einerseits bei der Spermatienbildung der Metazoen und andererseits bei der Geißelbildung der Flagellaten. Die Botaniker haben sich nur gelegentlich der Befruchtungsvorgänge bei einigen Kryptogamen und Gymnospermen mit ihnen beschäftigt. In beiden Wissensgebieten ist die Frage nach dem Ursprung der Blepharoplasten aufgetaucht und ist schließlich dahin spezialisiert worden, ob Identifizierung von Centrosomen und Blepharoplasten möglich sei.

Um nicht die gesamte, in vielen Lehrbüchern [Wilson (8), Gurwitsch (9) u. a.] angeführte Literatur hier aufzählen zu müssen, setze ich eine Zusammenfassung hierher, die Ikeno (10) im letzten Bande der „Flora“ als vorläufiges Resultat nach manchen Kontro-

versen gibt. Es lassen sich nach Ikeno drei Arten von Blepharoplasten unterscheiden:

I. Centrosomatische Blepharoplasten sind solche, welche entweder onto- oder phylogenetisch centrosomatischen Ursprungs sind; soweit untersucht, gehören fast alle Blepharoplasten zu dieserKategorie: Myxomyceten, Lebermoose, Gefäßkryptogamen, Gymnospermen.

II. Plasmodermale Blepharoplasten. *Chara*, einige Chlorophyceen.

III. Karyo- oder Kernblepharoplasten. Nur bei einigen Flagellatengattungen.

Es ist klar, daß der Blepharoplast oder besser „Elateroplast", von dem die Elateren der Myxomyceten ihren Ursprung nehmen, der ersten Gruppe angehören, sahen wir ihn doch in der Textfig. VII, 1 als echtes Centrosom am Spindelpole liegen. Er ist demnach nicht nur phylogenetisch, sondern zweifellos auch ontogenetisch einem solchen gleichznsetzen. — Es gibt überkritische Beobachter, die etwa mit Webber (11) Belajeff's (12) Blepharoplasten bei der Spermatogenese von *Marsilia* nicht als gleichbedeutend mit Centrosomen gelten lassen wollen, weil die Strahlnngen nur nach der Richtung des Zellkernes und nicht nach der anderen Seite gehen. Auch sie werden angesichts der deutlich allseitigen Strahlen in dem hier behandelten „Elateroplasten" ein dem Centrosom völlig identisches Gebilde sehen müssen. Dazu kommt, daß Jahn in seiner Arbeit über die Schwärmerteilung der Myxomyceten die Entstehnng der Geißel aus dem Centrosom nachgewiesen hat.

Von allen bis heute über den Gegenstand der Geißelbildnng aus Blepharoplasten erschienenen Bildern kommen diejenigen von Shaw (13) über *Marsilia vestita* den meinen am nächsten. Hier entsteht die Geißel nicht wie bei der von Ikeno (14) behandelten *Marchantia* an dem Blepharoplasten, sondern der Blepharoplast selbst verwandelt sich in eine Geißel. Shaw äußert zwar die unhaltbare Ansicht, daß der Blepharoplast in eine Gruppe kleinerer Körner zerfiele, durch deren Aneinanderreihung das spiralige Band entstünde; aber seine Bilder, besonders Fig. 18 n. 19, zeigen, daß sich der Vorgang ähnlich abspielt wie bei der Entstehung der Myxomycetenelateren aus Elateroplasten. — Es macht sich in den erwähnten Stadien, also lange nach der Karyokinese, eine enge Beziehung zwischen dem Blepharoplasten und dem Kern bemerkbar, die sich darin ausdrückt, daß der Kern die Wanderung des Blepharoplasten nach der Zellmembran mitmacht. Bei den Myxomyceten findet allem Anschein nach auch eine Bewegung des Elateroplasten statt, wenn sie auch bei dem Mangel einer Raumeinteilung im Sporangium nicht

bewiesen werden kann. Jedenfalls bestehen noch lange, nachdem die kinoplasmatischen Strahlungen bestimmte Begrenzung angenommen haben, fadenartige Verbindungsglieder zwischen den Elateroplasten und dem einstmaligen Kern. Ähnliches ist auch aus den Arbeiten Harper's (15) bekannt. In den Figuren von der Bildung der Askusspore bei *Erysiphe* liegen die Centrosomen der letzten Teilungsspindel der Zellmembran an. Ihre Strahlungen steigen springbrunnenartig empor und laufen wieder parallel der Wandung herab. Die schließliche Umgrenzung des Tochterkernes zum Zwecke der Sporenbildung vollzieht sich, indem die Strahlungen aufeinandertreffen und indem sich aus bzw. zwischen ihnen eine Wand bildet, die das Kinoplasma der Spore vom Cytoplasma des Askus abschließt.

§ 4. Die morphologischen Vergleichsmöglichkeiten wären hiermit erschöpft, und es bleibt die Tatsache bestehen, daß die Myxomyceten auch in ihrer Elaterenbildung sich als höchst eigenartige Organismen kennzeichnen. Ich hebe diese Besonderheiten nochmals kurz hervor: Der Elateroplast entsteht aus dem Centrosom einer heteropolen Kernspindel. Der ganze komplizierte Apparat der Karyokinese wird in Bewegung gesetzt, um ihn hervorzubringen. Der sonst übliche Zweck einer Karyokinese, nämlich die Kernteilung, kommt in Wegfall, ja der Kern geht sogar der Sporenbildung ganz verloren. Die Chromosomen werden zerstreut und vergehen bald, nachdem sie als unnatürlich aufgeschwollene Brocken eine Zeitlang im Plasma gelegen haben. In einem gewissen Sinne bildet also der Elateroplast einen Übergang zu den Karyoblepharoplasten Ikeno's; denn wie bei den Flagellaten wird ein vollgültiger Kern für seine Bildung aufgeopfert. Ein weiteres Moment von großer Eigentümlichkeit ist, daß das aus dem Elateroplasten gebildete Organ kein aktiv bewegliches ist, überhaupt keinem lokomotorischen Zwecke zu dienen hat wie etwa die Cilien der *Gingko*- oder *Marsilia*-Spermatozoiden. Es ist von Anfang an ein starrer Körper, der, sobald er seine genügende Größe erreicht hat, von dem Plasma, wenn man so sagen darf, als Außenwelt behandelt wird, gegen die es eine celluloseartige Masse abscheidet, genau wie bei der Glashülle des ganzen Sporangiums.

Zusammenfassung.

Das Plasma des jugendlichen Sporangiums zeigt zweifache Beschaffenheit. Die nach außen gerichteten Teile des Sporangiums bzw. des Sporangiumhaufens zeigen dichtes, die inneren vakuoliges Plasma.

— Die Stielfaltung geschieht durch tangential verlaufende Fibrillen, die besonders in der Übergangsregion zwischen Sporangium und Stiel anzutreffen sind. — Bei den Kernen findet sich eine Karyogamie mit folgender Synapsis und deutlicher Diakinese. Die Karyokinese vor der Sporenbildung ist als heterotypische, die Schwärmerteilung als Reduktionsteilung anzusehen. — Die Elateren entstehen aus Centrosomen, die ihren Ursprung von der heteropolen Teilungsfigur eines fusionierten Kernes nehmen.

Berlin, Botanisches Institut der Universität.

Literaturverzeichnis.

1) De Bary: Die Mycetozoen (Schleimpilze). 2. umgearb. Aufl. Leipzig 1864.
2) E. Jahn: Myxomycetenstudien. Nr. 1: Dictydium umbilicatum. Berichte der Deutsch. Botan. Gesellsch. Jahrg. 1901 Bd. XIX Heft 2.
3) E. Strasburger: Zur Entwicklungsgeschichte der Sporangien von Trichia fallax. Botan. Ztg. Jahrg. 42 1884 Nr. 20.
4) Arthur Lister: On the division of nuclei in the Mycetozoa. Journ. of Linn. Soc. Vol. XXIX 1893.
5) E. Jahn: Myxomycetenstudien. Nr. 3: Kernteilung und Geißelbildung bei den Schwärmern von Stemmonitis flaccida Lister. Ber. der Deutsch. Botan. Gesellsch. Jahrg. 1904 Bd. XXII Heft 2.
6) Harper: Cell and nuclear division in Fuligo varians. Botanical Gaz. XXX 4.
7) Prowazek: Kernverhältnisse in Myxomycetenplasmodien. Österreich. Botan. Zeitschr. LIV.
8) Wilson: The Cell in Development and Inheritance. 2d edition. New York 1904.
9) Gurwitsch: Morphologie und Biologie der Zelle. Jena 1904.
10) Ikeno: Zur Frage nach der Homologie der Blepharoplasten. Flora Bd. 96 1906.
11) Webber: Spermatogenesis and Fecundation of Zamia. U. S. Dep. of Agric. Bureau of Plant Industry Bull. Nr. 2 1901.
12) Belajeff: Über die Centrosome in den spermatogenen Zellen. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. Bd. XVII 1899.
13) Shaw: Über die Blepharoplasten bei Onoclea und Marsilia. Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellsch. Bd. XVI 1898.
14) Ikeno: Beiträge zur Kenntnis der pflanzlichen Spermatogenese. Beihefte zum Centralbl. Bd. 15.
15) Harper: Kernteilung und freie Zellbildung im Askus. Pringsheim's Jahrb. 1897 Bd. XXX.

Tafelerklärung.

Tafel IV.

Fig. 1. Stück aus einem Querschnitt durch den Stiel von *Arcyria cinerea*.

Fig. 2. Stück aus einem Querschnitt durch die Übergangsregion vom Stiel zum Sporangium bei *Trichia fallax*.

Vergr. von Fig. 1 u. 2 ist 600 : 1.

Fig. 3. Querschnitt durch ein Stück der Glashülle eines Sporangiums von *Arcyria cinerea*. Lamellöser Bau. Vergr. 1200 : 1.

Fig. 4—13. Entwicklungsstadien der Kerne. Gefärbt mit Eisenhämatoxylin. Vergr. 5000 : 1.

Fig. 4. Kern vor der Fusion.

Fig. 5—7. Fusionsstadien.

Fig. 8 u. 9. Synapsis.

Fig. 10 u. 11. Diakinese.

Fig. 12. Gürtelbandstadium nach der Diakinese.

Fig. 13. Degenerierender Kern.

Fig. 14—23. Entwicklungsstadien der Elateren bei *Oligonema nitens*. Färbung Eisenhämatoxylin. Vergr. 800 : 1.

Fig. 14 a. Strahlung ausgehend von dem Elateroplasten.

Fig. 14 b. Fortgeschritteneres Stadium.

Fig. 15 a. Strahlung des Plasmas und Fibrillen ausgehend von Elateroplasten.

Fig. 15 b. Heteropole Spindeln.

Fig. 16. Plasmastrahlung um aufgeblähte Elateroplasten.

Fig. 17. Die Plasmastrahlung nimmt ab, Beginn der Membranbildung.

Fig. 18. Dasselbe im fortgeschrittenen Stadium.

Fig. 19. Die Plasmastrahlung hört auf. In der längsgeschnittenen Elatere ein Mittelband von körnigem Inhalt.

Fig. 20. Der Elaterenquerschnitt zeigt ausgebildete Membran.

Fig. 21. Fertige Elateren, das Plasma segmentiert sich zur Sporenbildung.

Fig. 22. Dasselbe.

Fig. 23. Ausgebildete Elatere aus einem reifen Sporangium.

La coniugazione e il differenziamento sessuale negli Infusorî.

Paolo Enriques (Bologna).

(Colle tavole V—VIII e 2 figure nel testo.)

Indice.

I. Introduzione.

Lo studio delle condizioni d'ambiente capaci di indurre a coniugarsi gli Infusorî, anche se discendenti prossimi di exconiuganti, anche se legati da vincoli stretti di parentela, è stato il punto di partenza di queste ricerche, colle quali volevo in certo modo portare una controprova a quanto affermai in precedenti pubblicazioni: dopo aver dimostrato sperimentalmente che la cosi detta degenerazione senile degli Infusorî, si produce per condizioni esterne, batteriche — mentre non si produce anche per centinaia di generazioni agame, purchè le culture siano mantenute in condizioni quasi invariabili e buone, con un metodo scrupoloso — dopo ciò, la controprova che desideravo di fare — e che è riuscita — mi pare debba portare l'ultimo colpo alla teoria della degenerazione senile e della maturità sessuale prodotta da una serie lunga di generazioni agame.

Ma nel corso di queste ricerche, altri problemi si aprirono, ed ecco quali sono i principali:

1. Apparve l'influenza di una condizione non mai supposta prima, lo spessore verticale dello strato liquido della cultura, nella determinazione della coniugazione, per il *Colpoda Steinî.*

2. L'esistenza di individui femminilmente differenziati, nei Vorticellidi che anatomicamente mostrano soltanto differenziati i microgameti; l'esistenza — di una „divisione sessuale", colla

quale si produce da un individuo neutro, uno differenziato in senso maschile, l'altro in senso femminile.

3. A questo punto, la ricerca sperimentale si intrecciò talmente coll'osservazione minuta, citologica, dei fenomeni di coniugazione nell' *Opercularia coarctata*, che fui condotto a studiare in questa specie tali processi sistematicamente, nei più piccoli dettagli; ed a trattare di tutte quelle questioni annesse e connesse in cui sempre ci si imbatte, studiando i processi di cariocinesi e di coniugazione.

I resultati di indole più generale si trovano in ultimo, come conclusione; i resultati di indole più particolare, alla fine di ciascun argomento.

Queste ricerche son state eseguite in gran parte nell' Istituto zoologico dell' Università di Göttingen, ed al Prof. G. R. Ehlers, direttore dell' Istituto, ed al Prof. Rhumbler, sento il dovere di esprimere qui tutta la mia gratitudine per la cordiale ospitalità ricevuta, e gli intelligenti consigli.

II. Metodi.

Negli studî biologici sui Protozoi, come è generalmente riconosciuto, la tecnica è quasi tutto; devo dunque spiegare in qual modo preparavo le mie culture, per quanto ciò differisce dai sistemi da me precedentemente adottati (Enriques 1905).

Grandi culture. — In generale si descrive una cultura di Protozoi come qualche cosa che ha un' esistenza solo temporanea, e deve essere spesso rifatta. A me premeva invece di avere, di ciascuna specie, culture che non deperissero, fossero sempre ricche, ed in condizioni poco mutevoli. Ciò non presenta difficoltà pratiche, una volta trovato il metodo. Il deperimento graduale delle culture deriva evidentemente dalle grandi modificazioni che il liquido subisce, per effetto delle specie coltivate, e degli altri organismi che gli servono di alimento, o che inevitabilmente vi si trovano insieme.

Per evitare queste modificazioni, si deve cambiare continuamente il liquido, senza aspettare che gli Infusorî diano segni di depressione; non si deve prendere gli Infusorî depressi e porli in buono ambiente a formare nuove culture, ma avere sempre una cultura, in cui gli Infusorî restino, ed il liquido sia tolto ogni giorno. Così gli Infusorî, sempre molti ed abbondantemente nutriti, ed in buone condizioni di salute, si trovano in uno stato d' equilibrio poco mutevole.

La tecnica di queste *culture continuative*, richiede naturalmente certi accorgimenti, che variano secondo la specie coltivata. Preparo di solito gli infusi nutritizî, facendo bollire del fieno nell'acqua potabile, e lasciando stare poi il liquido a sè per qualche giorno, in un recipiente originariamente sterilizzato, ma che non vien pulito ogni volta, ed in cui l'estratto è versato dopo raffreddamento; sì che i Batterî e piccoli Flagellati che in esso già si trovavano, servono a rendere presto la cultura ricca di questa microfauna e microflora. Ed ora, consideriamo di avere gà una cultura ricca di Opercularie, ad esempio. Esse stanno in numero immenso alla superficie libera del liquido, poche al fondo. Con un sifone, tolgo la massima parte del liquido, cercando di evitare quanto è possibile di trascinar dietro gli Infusorî, che sono alla superficie. Nel recipiente quasi svuotato, aggiungo il liquido alimentare, fino al livello primitivo. Tale operazione si ripete ogni due o tre giorni, o più spesso, se si vuole che le condizioni della culture siano fisse.

Una forma particolare di queste culture, che possiamo chiamare *culture al massimo*, si ottiene quando, insieme col liquido, la maggior parte degli Infusorî si toglie pure via. Allora i rimanenti trovano maggiore quantità di alimento e proliferano attivamente, e sono al massimo grado di alimentazione. Tecnicamente non vi è nulla di più semplice: basta versar via la maggior parte del liquido, direttamente senza sifone, ed aggiungere nuovo infuso, facendo questa operazione *tutti* i giorni.

Naturalmente bisogna per ogni specie coltivata trovare il grado di concentrazione che più le si confà. Con questo intento, io faccio sempre gli estratti a caldo mediante una quantità approssimativamente uguale di fieno e di acqua. Cambio invece il rapporto tra questo infuso e l'acqua potabile bollita (senza fieno) che aggiungo o sostituisco nei vasi delle culture. Cambio anche la freschezza dell' infuso. Per le specie, come *Opercularia coarctata*, che tollerano un grande sviluppo batterico, è bene adoperare infusi preparati alcuni giorni avanti. In altri casi, massime per certe specie di Vorticellidi difficili a coltivare, la *Vorticella nebulifera* per esempio, si devono adoprare infusi più freschi. Son solito in questi casi adoprare un infuso che, dopo bollitura, è rimasto un solo giorno in riposo col suo fieno (in maniera da arricchirsi di sostanze disciolte), ma nel recipiente stesso in cui è stato bollito, od in altro in cui è stato messo caldo; in tal maniera lo sviluppo di Batterî è scarsissimo.

Con questi accorgimenti, i Chilodon, Colpoda, Vorticelle, Opercularie, Parameci ecc. ho mantenuto in condizioni poco mutevoli e

buone, per mesi e mesi. Di una specie, il *Carchesium polypinum*, non ho ottenuto culture continuative, essendo solo riuscito a ritardare il deperimento di quelle culture che si formano naturalmente, con acqua ed erbacce pescate nei fossi. Certamente non è una difficoltà di principio che qui si oppone; è solo che questa specie ha condizioni di esistenza piuttosto ristrette, le quali non ho potuto fin qui esattamente determinare. Ma devo anche dire che gli ultimi perfezionamenti di questa tecnica, quale sopra è descritta, non li ho potuti esperimentare su questa specie, perchè non sono riuscito a trovarla a Bologna, — dato che la lotta contro la malaria ha fatto spargere nelle acque stagnanti dei veleni, micidiali per le larve delle zanzare e per gli studiosi di Protozoi.

Piccole culture. — Per trasportare sotto il microscopio le piccole culture dove gli Infusori vengon posti in isolamento ed esperimento, ho adottato delle piccole camerette umide composte di due parti (Fig. 1 nel testo). La inferiore è formata di un vetrino portaoggetti contornato di una bacchetta di vetro, che vi è saldata con ceralacca; la parte superiore, di un coprioggetti ugualmente contornato, e capovolto sulla prima, dove è versata un poco d' acqua. La piccola cultura sta in goccia pendente, aderente al coprioggetti. Piccole avvertenze son necessarie: di coprire con paraffina la ceralacca, nella scodellina superiore, per evitare che la goccia pendente si spanda sulla ceralacca medesima; sulla paraffina non si spande; di porre acqua distillata nella vaschetta di sotto, quando la goccia pendente è molto piccola; di spargere un minimo strato di albumina glicerinata (la miscela di Mayer per attaccare le sezioni microscopiche) sul vetro che fa da fondo, perchè l' acqua lo bagni bene fino ai bordi; ciò è importante perchè l' acqua non invada la cultura, quando si solleva il vetrino di sopra onde fare alla cultura stessa qualche operazione. Queste camerette, che si posson osservare per ore di seguito al microscopio, pur di non lasciar disseccare l' acqua esterna, permettono di conservare gocce addirittura minime, p. e. che abbiano un diametro minore di mezzo mm., quando la temperatura della stanza è nelle varie ore della giornata assai costante; altrimenti le gocce devon essere un poco più grandi. Una grande camera umida, capace di contenere molte di queste camerette, serve per conservarle giorni o mesi se occorre. L' osservazione con obbiettivi ad immersione riesce molto comoda, perchè si può facilmente togliere l' olio di cedro rimasto sulla cameretta, senza minimamente danneggiare la piccola cultura.

Qualche volta ho adoperato per fondo un vetrino da orologio poco curvo ed a fondo piano (Fig. 1 del testo) o, per scopi speciali, ho posto un vetrino coprioggetti sopra uno da orologio, pieno di liquido di cultura tanto da bagnare la faccia inferiore, ma non la superiore del coprioggetti. Questo metodo serve per fare attaccare molte Vorticelle ad un vetrino; ed' uno analogo consiste nel porre alcuni coprioggetti a galla, in un liquido di cultura di questi Infusorî; dopo un giorno, dopo due o tre al più, si trovano numerosissime

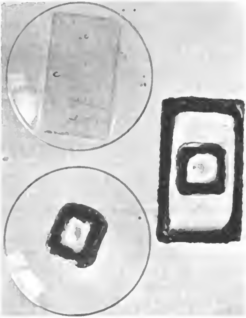


Fig 1.

Vorticelle attaccate alla faccia inferiore del vetrino, ciò che è comodo per fare i preparati. Colle Opercularie riesce invece meglio un altro sistema: mettere un vetrino coprioggetti al fondo di una base da cameretta umida, che serve questa volta da sola; versatavi la cultura di Opercularie, queste si attaccano numerose al vetrino che è in fondo, mentre, come sopra abbiamo avvertito, nelle grandi culture esse stanno più volentieri alla superficie superiore.

Anche nella **tecnica** per la confezione dei **preparati microscopici** ho da indicare alcuni metodi particolari.

Per far sezioni di Infusorî che non siano in straordinaria abbondanza nella cultura, o di cui si voglia avere un numero grandissimo nei preparati, c'è sempre il problema di non perderne troppi durante le varie manipolazioni. A questo scopo ho spesso adoprato con buon esito una scatoletta di carta da filtro o di carta da scrivere, molto piccola (6—8 mm. di lato), il cui fondo è reso ben piano coll' attaccarvi di sotto un vetrino coprioggetti. Perchè la scatoletta non si apra nelle varie operazioni, passo uno spillo fino attraverso di essa, in alto, e precisamente attraverso a quelle due facce opposte dove si trovano le rivoltature della carta. Posto il tutto in una vaschetta di vetro a fondo piano, porto dentro la scatoletta gli Infusorî, il cui numero può venire aumentato lasciando che un poco di liquido filtri attraverso la carta, e riempendo sempre la scatoletta. Dopo ciò, aggiungo il fissativo, lascio parzialmente filtrare, aggiungo nella scatoletta il liquido che dopo il fissativo deve sostituirlo, mentre al di fuori di essa vuoto sempre la vaschetta di vetro, mediante una pipetta. Così si possono successivamente cambiare tutti i liquidi, pur di non lasciare mai completamente vuota la scatoletta di carta, e si perdono pochissimi Infusorî; si può sostituire anche più volte la paraffina, mediante una pipetta scaldata, oppure si aggiunge paraffina solida dentro al toluolo e si lascia che questo evapori. Per raffreddare la paraffina, si porta la scatoletta di carta nell' acqua, e poi si toglie vetrino e carta, e rimane un blocchetto pronto ad esser sezionato, e con molti Infusorî al fondo.

Come fissativo ho adoperato per lo più il sublimato in soluzione satura acquosa, con un po' d'acido acetico, ed a caldo. Come coloranti, o l' ematossilina ferrica secondo Heidenhain (sola o seguita da una lieve colorazione alla fucsina) oppure una doppia colorazione al carmino boracico e verde metile, che mi ha dato resultati assai buoni sia nei preparati *in toto*, sia nelle sezioni, e assai strani confrontandoli con quelli dell' ematossilina ferrica. Questa colorazione al carmino e verde metile si può fare come segue. Prima si colora col carmino boracico, fino ad un rosa debole, poi si lava in alcool non acidulato. Se il carmino tinge molto, è bene allungarlo con alcool a 70 %. Poi si lascia nel verde metile (sciolto all' 1 % nell' alcool a 70) fino a un bel colore verde, che nei lavaggi successivi, in alcool, va via per la maggior parte. I tempi non posso indicarli con precisione, giacchè, ripetendo il metodo in laboratorî differenti, mi è accaduto di trovare delle differenze enormi; se però le soluzioni sono molto attive, bastano 2—4' nel carmino boracico allungato con alcool a 70 a parti uguali, e 5—10' nel verde metile, seguito da

lavaggio abbondante; che deve essere invece rapidissimo certe volte che il verde metile colora poco. Forse ci influisce la purezza delle sostanze, od anche il fissativo adoperato.

I preparati *in toto* devono essere chiusi in glicerina, le sezioni in balsamo del Canadà. Facendo preparati con questo metodo, ed altri con ematossilina ferrica, si hano nell' *Opercularia coarctata* degli strani contrasti; si tingono:

1. il micronucleo in riposo pochissimo nei preparati all' ematossilina — in verde o leggermente viola, col carmino boracico e verde metile.

2. Il citoplasma pochissimo o punto coll' ematossilina — in rosa coll' altro metodo.

3. I corpi interni del macronucleo, intensamente coll' ematossilina — in verde coll' altro metodo.

4. Il resto del macronucleo pochissimo coll' ematossilina — in rosa coll' altro metodo.

5. I cromosomi nella piastra equatoriale, intensamente coll' ematossilina — in verde coll' altro metodo.

Come si vede, due doppie colorazioni — in fondo anche il metodo dell' ematossilina ferrica è una doppia colorazione, perchè si ha il colore dell' ematossilina e quello del mordente, che può essere sostituito dal rosa o rosso, se si aggiunge il trattamento colla fucsina — due doppie colorazioni distinguono i corpi dell' Opercularia, ciascuna in due categorie, ma in modi assolutamente diversi.

Per fare i preparati *in toto*, di *Opercularia* od altri Vorticellidi, mi sono esclusivamente servito dei metodi di autoattaccamento al vetrino, descritti poco sopra, a proposito delle piccole culture. Desiderando di non aver fenomeni di compressione, interponevo dei capelli tra il porta ed il coprioggetti; ed il metodo dell' autoattaccamento, oltre il vantaggio della comodità delle manipolazioni, ha quello di permettere l' esistenza di un discreto intervallo trai due vetrini — onde impossibilità di schiacciamento — ed insieme la possibilità dell' osservazione coi più forti obbiettivi ad immersione, giacchè gli Infusori son rimasti vicini al coprioggetti.

Fissare in estensione i Vorticellidi non era richiesto in modo speciale dalle mie ricerche; pure studiai un poco la questione, e potei accertarmi che il sublimato acetico riscaldato verso 80° fissa il peduncolo delle Vorticelle bene spesso in estensione; non tutti gli individui si trovano estesi, ma molti sì; il metodo di CERTES e BEAUCHAMP (04) non mi ha dato buoni resultati per il corpo dell' *Opercularia*.

III. Condizioni determinanti la coniugazione nel Colpoda Steini (Mps.).

1. Influenza dello spessore della cultura.

Questa specie, sviluppata in straordinaria abbondanza in un infuso di fieno, mi fornì delle coniugazioni, avendo posto alcune gocce nelle mie camerette umide, per produrre e provare quelle condizioni di digiuno in piccole culture, che, secondo il Maupas (89), R. Hertwig ed altri, sono condizioni determinanti la coniugazione negli Infusori. Ciò accadde verso la metà di Gennaio 1906, e la reazione era così regolare, che una goccia pendente in una cameretta umida, oppure un preparato uso Maupas (88) (un portaoggetti ed un coprioggetti sovrapposto, ma tenutone discosto con un filo di vetro) contenevano sempre coniugazioni, anche in gran numero, dopo breve tempo. Riporto un esempio:

21. 1. 06. 3 vetrini uso Maupas, ed uno a goccia pendente son preparati coll' infuso ricco di *Colpoda*. — 22. 1. Epidemia di coniugazioni in tutti i vetrini. — 23.—26. 1. Seguitano le epidemie, ma tendono a diminuire di intensità. — 28. 1. Moltissime cisti, liberi pochi, piccoli, non coniugazioni. Dopo questo tempo le culture seguitano una vita stentata, ossia aumentano sempre le cisti, diminuiscono i *Colpoda* liberi. Il 26. 2. 06 si cessa l'esperimento.

Tale reazione così immediata che si produceva senza fallo mentre nella cultura madre, da cui erano tolte le gocce, non vi era nemmeno una coniugazione, mi fece dubitare che non si trattasse soltanto del digiuno, come causa determinante la coniugazione nei piccoli vetrini, ma che la piccolezza delle culture potesse avere una influenza come tale. Allora feci il seguente esperimento:

22. 1. 06. Sopra alcuni portaoggetti saldo con ceralacca delle bacchette di vetro, si da avere degli scompartimenti delle segnenti grandezze: mm. 43×23; 23×21; 2,1×4,5; vi metto infuso con *Colpoda*, per una profondità, in tutti, di circa ¹/₄ mm.; in un altro simile, largo pure 23×21 mm., metto infuso per una profondità di mm. 0,4, ed in uno un poco più piccolo, per una profondità di circa mm. 2,3; di più, preparo una delle solite camerette con goccia pendente. Il liquido, tolto dalla superficie della cultura madre, mescolato in un vetrino da orologio, è suddiviso in queste varie culture, in modo da avere per quanto è possibile una grande uniformità nelle sue proprietà, compresa la percentuale di Infusori ed alimento. Il 23. 1., molte coniugazioni dappertutto, tranne nel vetrino dove il liquido era profondo mm. 2,3; ve ne sono, in questo, solo poche, che si trovano a fatica. L'epidemia dura ancora nei giorni seguenti.

Da questo esperimento sorge subito il dubbio che l'elemento importante, che ha la maggiore influenza, sia la profondità dei recipienti. Allora il giorno seguente preparo le seguenti culture:

23. 1. Scompartimento di mm. 21×23, con un sottile strato di infuso; scompartimento piccolo, circa mm. 2,1×4,5, liquido per una profondità di mm. 1,9. — Il 24. 1., trovai una ricca epidemia nel vetrino largo con infuso poco profondo, e nessuna coniugazione nel piccolo scompartimento.

Contemporaneamente il 23. 1. preparai una cultura, versando l'infuso ricco di *Colpoda* in un coperchio di vetro circolare, di diametro circa di 67 mm., e per una profondità di circa 1,5 mm. — Il 24 nessuna coniugazione, il 25, epidemia. Alle 10½ un po' di liquido di questo coperchio viene posto in un tubo verticale largo 6 mm., e per una profondità di 15 mm. Alle 16 nessuna coniugazione vi è più, mentre ancora vi è una ricca epidemia nel coperchio, ed in una goccia pendente in cameretta umida, pure trasportata dal coperchio, a ora 12½, ed in un sottile strato a superficie scoperta, trasportato come sopra. Allora il liquido senza coniugazioni lo rimetto in superficie larga ed in sottile strato, versandolo in uno degli scompartimenti sopra citati, e nel tubo metto nuovo liquido dal coperchio, fino all' altezza di prima (mm. 15). Alle 17½, il liquido rimesso nel tubetto contiene un numero straordinario di cisti, e poche coppie, i cui individui tendono ad incistidarsi. Rimesso il liquido in strato poco profondo, dopo mezz' ora non ci son più le numerose cisti prima osservate, e si osservano invece già parecchie coppie in formazione. Nei giorni seguenti, poche coniugazioni negli strati sottili, e moltissime cisti, che vanno sempre aumentando. Il 29 provai a prendere di questo liquido ricco di cisti dal coperchio, metterlo in gocce pendenti ed in tubi sottili verticali ed orizzontali, aggiungendo anche infuso più ricco di alimento od acqua potabile; ma non riuscii a produrre nuovamente coniugazioni.

L'influenza dello strato alto come impedimento alla coniugazione, resulta da questo esperimento evidente. E giacchè, ripetendolo in vario modo, ebbi lo stesso resultato, rimane chiaramente spiegato perchè nella cultura madre non si formassero coniugazioni, che invece divenivano abbondantissime nelle piccole gocce, appena un giorno o due dopo la loro preparazione.

Sospettai anche, da questi esperimenti, che ponendo il liquido coi *Colpoda* entro tubetti, si potesse forse più brillantemente dimostrare la stessa cosa, secondochè i tubi fossero tenuti orizzontali o verticali. Ed in questo senso feci un numero grandissimo di esperimenti, prendendo dei tubetti di pochi cm. di lunghezza, chiusi ad un estremo, aperti all' altro, di diametro vario, e posti ora orizzontalmente ora verticalmente. Quando il diametro era di 4.5 mm, coniugazioni non si formavano nè nei tubi orizzontali nè nei tubi verticali. In quelli invece che avevano un diametro di 1—2 mm, o qualche cosa di più, si formavano epidemie di coniugazioni, da un giorno all' altro, se erano posti orizzontalmente; nemmeno una coniugazione era visibile in quelli tenuti verticalmente. L'osservazione positiva nel primo caso era facile a farsi, bastava versare su un vetrino una goccia del liquido contenuto nel tubetto; nel secondo caso, l'osservazione negativa richiedeva naturalmente

maggiori precauzioni. Osservavo **tutto** il liquido del tubetto, versandolo sopra un vetrino, ma diviso in piccole gocce: gocce tanto piccole, da potersi osservare con un obbiettivo debole in modo da acquistare la sicurezza assoluta che esse non contenessero **nemmeno una** coppia di coniuganti. L'esperimento divenne poi ancora più dimostrativo, modificandolo nel senso di adoperare un sol tubetto, messo successivamente in posizione orizzontale e verticale, per più volte, mutando la sua posizione una volta al giorno; ed il resultato fu nettissimo, cioè più volte di seguito in uno stesso tubetto mi riuscì di osservare la comparsa e la sparizione delle coniugazioni, secondo la posizione; naturalmente in nessun caso è possibile di prolungare molto l'esperimento, perchè dopo alcuni giorni ed in qualunque posizione sia tenuto il tubetto, l'epidemia diminuisce e cessa. I tubetti orizzontali — è necessario a questo proposito dare qualche schiarimento — non lasciavano scorrer via il liquido che contenevano, dato il loro diametro ristretto. Poteva sorgere il dubbio che il liquido, bagnando un poco la parete del vetro, si estendesse a formare uno strato sottilissimo, ove potesse essere l'origine delle coniugazioni. Ma anche questo pericolo potei eliminare completamente, cospargendo la parete interna del tubo di un sottile strato di paraffina; allora il tubetto, posto verticalmente od orizzontalmente, non mostrava all' occhio variazione alcuna nel menisco del liquido, il quale cercavo che fosse piano quanto era possibile; in ogni caso, era affatto evitata la possibilità che il liquido bagnasse la parete del tubo Con questi piccoli perfezionamenti tecnici, l'esperimento, molte volte ripetuto, non variò affatto nel suo decorso.

Che un tubetto posto verticalmente permetta ai Colpoda di coniugarsi, è anche possibile, e ciò in due casi differenti: o che il liquido in esso contenuto non superi un' altezza di circa 2 mm. — e questo caso conferma senz' altro la solita regola, in quanto anche qui si tratta di uno strato verticalmente sottile — o che il tubetto sia un capillare molto sottile. Allora la cultura deperisce rapidamente, e presenta un decorso molto irregolare, mostrandosi coniugazioni talora in tubi verticali, talora in tubi orizzontali, talora non negli uni nè negli altri. Non è molto degno di nota il fatto che il tubo orizzontale sottilissimo, in cui palesemente i *Colpoda* vivono male, non sia sempre ricco di coniugazioni. Anche versando del sublimato corrosivo sopra ad una cultura si impedisce che in essa si formino coniugazioni, e così, senza andare all' esagerazione, tutte le volte che per una ragione o per un' altra una condizione nociva limita o interrompe la vitalità degli Infusori. Quanto all' altra

eccezione, ricordiamola per un momento, mettendola da parte per trattarla insieme con un altro caso analogo tra poco.

Con questi esperimenti non si rende ancora chiara la ragione per la quale i *Colpoda* si coningano soltanto in strati sottili. Si è dimostrato questo fatto, ma non trovata la sua causa; differenti supposizioni si possono fare. Quando lo strato è grosso in senso verticale, può essere che la quantità di alimento che si raccoglie alla superficie libera dove vivono i *Colpoda*, sia maggiore che nel l'altro caso; insomma, le condizioni nutritizie potrebbero essere diverse nei due casi, se p. e. i Batterî si portassero più facilmente alla superficie libera quando essa è superiore (tubetto verticale) che quando essa è laterale (tubetto orizzontale). D' altra parte si potrebbe supporre che realmente la profundità della cultura abbia una diretta influenza sopra al *Colpoda*. Queste varie supposizioni mi condussero a fare un esperimento tale da scindere i varî elementi. Preparai delle cellette fatte nel seguente modo: su un vetrino portaoggetti sono saldate delle bacchette di vetro, in maniera da formare due lati opposti di un quadrato o di un rettangolo; sopra, è saldato un coprioggetti. Rimane così trai due vetrini uno spazio che può esser riempito di liquido; e se il coprioggetti non è più grande di 2 cm. q. e la profondità dello spazio (ossia il diametro delle bacchettine) è qualche cosa meno di 2 mm., il liquido non si versa in qualunque posizione sia messo il tutto, e siamo per l' appunto nelle condizioni buone per fare esperimenti col *Colpoda*; ponendo il vetrino orizzontalmente, lo strato di 2 mm. è tale da permettere loro la coniugazione; ponendo il vetrino verticalmente, la profondità del liquido in direzione verticale — circa 1 cm. $^1/_2$ — dovrebbe esser tale da impedire la coniugazione. Ma si può mettere il vetrino verticalmente in due modi diversi: o colle superfici libere del liquido orizzontali ed allora veramente il liquido cade; ma si può fare l'esperimento in condizioni poco variate, chiudendo un lato di più della celletta, e lasciandone libero uno solo, che sarebbe in questo caso quello superiore; — oppure si può mettere il vetrino colle superfici libere verticali, ed in questo caso possono essere veramente due libere. od una, a volontà. Nel caso della celletta aperta di sopra, siamo in condizioni che corrispondono a quelle del tubetto posto verticalmente, quanto nel caso della celletta posta orizzontalmente siamo in condizioni simili a quelle del tubetto orizzontale. Ma nell' ultimo caso. del vetrino verticale colle superfici libere laterali, siamo in condizioni nuove e molto significative per il nostro scopo; le superfici libere sono laterali, non superiori, sono laterali

$1^1/_2$ cm., come lo sono nel caso in cui esso è di soli 2 mm. (vetrino orizzontale).

Molto incuriosito di sapere se in queste nuove condizioni i *Colpoda* si coniugassero o no, preparai parecchi vetrini, mettendoli in tutte le condizioni che ho accennato sopra, ed uno stesso cambiandolo successivamente di posizione nei tre versi indicati, e così via. Ebbene, gli esperimenti dettero un resultato, anche qui, sempre concorde: che le superfici libere siano orizzontali o verticali non ha nessuna influenza; soltanto la grossezza dello strato in direzione verticale ha importanza, ossia la coniugazione non si è mai prodotta nei vetrini posti verticalmente, comunque fossero girati, ed avessero uno oppure due lati liberi. Cito un solo esempio, per non fare ripetizioni inutili:

11. 2. 06. Una celletta con un vetrino di diametro di 1 cm., fissato da due lati opposti, con due bacchettine di 2 mm. di spessore, è posta orizzontalmente, coll' infuso ricco di *Colpoda*. È messo invece verticale un vetrino che porta tre cellette: una simile a quella di sopra, con i due lati liberi verticali. Una che differisce dalla precedente solo per le dimensioni del vetrino, che è lungo 2 cm. e largo mm. 8,5; in questo caso le superfici libere non sono variate sensibilmente, ma soltanto la quantità del liquido, che è aumentata. Infine, una terza celletta ha solo il lato superiore aperto, pur essendo delle stesse dimensioni della prima. Queste tre cellette si riempiono collo stesso liquido di cultura del vetrino orizzontale.

12. 2. Nel vetrino orizzontale, coniugazioni, epidemia forte; in quello verticale nessuna, in nessuna celletta. L' osservazione si fa a lungo, per esame diretto dei vetrini al microscopio. A ore 12 si rivoltano i due vetrini, cioè si mette il primo verticale (superfici libere verticali, ossia laterali), e il secondo orizzontale. Dopo tre ore ci sono ancora coniugazioni nel primo vetrino, e si vedono incominciare anche nel secondo.

13. 2. Nel primo vetrino non c'è nessuna coniugazione; nel secondo ve ne sono molto numerose in tutte e tre le cellette. Nei giorni seguenti tutte queste piccole culture vanno lentamente deperendo.

Quando adoperavo cellette molto sottili, con uno strato liquido di una frazione di mm., allora le coniugazioni si formavano tanto in posizione orizzontale che in posizione verticale, esperimento questo che corrisponde a quello dei tubicini verticali capillari, nei quali ho talora osservato coniugazioni.

Facile è raccogliere i resulati di questi esperimenti in un unico enunciato: in tutti, i Colpoda si sono coniugati solamente quando lo strato liquido in direzione verticale era sottile, esclusi i tubetti e le cellette capillari. Ciò va d'accordo colle osservazioni degli altri autori, i quali non hanno conosciuto la coniugazione di questo Infusorio, giacchè generalmente

nel caso in cui lo strato liquido in direzione verticale è di circa si fanno culture assai più in grande. E nelle mie culture madri, nelle quali lo strato era profondo almeno qualche centimetro, non ho mai osservato coniugazioni.

L'ultimo esperimento, delle cellette, non lascia campo a supporre che modificazioni delle condizioni alimentari possano essere causa del formarsi o no delle coniugazioni. Non saprei affatto immaginare come esse possano prodursi in una celletta la quale da orizzontale vien posta verticale, sempre conservando i suoi due lati aperti laterali. Mi sembra che la influenza più probabile sia quella diretta, dello spessore dello strato; quando esso è piccolo, gli Infusorî, impacciati nei loro movimenti, si coniugano. Questo modo di considerare le cose spiega anche l'eccezione, dei tubetti e cellette capillari, giacchè in questo caso anche i movimenti verticali dei *Colpoda* — verticali, certamente non in senso esatto, geometrico! — devono venire impacciati, nonostante che lo strato in direzione verticale sia grosso.

Quanto al significato di questa reazione, rispetto alle abituali condizioni di vita dei Colpoda, si possono anche trarre delle conseguenze. Abbiamo visto, che l'epidemia di coniugazioni è preceduta da ancistidamento dei grossi individui; appena messe le culture in strato sottile, dopo poche ore, tutti i più grossi individui sono o in via di incistidarsi, o incistidati. Si tratta, esclusivamente di cisti di divisione, le quali, come è noto (Rhumbler 88) sono ben differenti dalle cisti conservative, e costituiscono in questa specie l'unico modo di scissione. Viene dunque in mente l'idea di considerare questi più grossi individui come quelli che producono, coi loro discendenti, l'epidemia di coniugazioni; però essi non sono indispensabili; anche da culture che non contengono questi individui di straordinaria grossezza — il polimorfismo del *Colpoda Steini* è ben noto — si possono avere coniugazioni; ma in numero ben limitato; onde a questi si deve almeno attribuire la parte principale nella produzione della epidemia. Le divisioni osservate corrispondono perciò alle divisioni di digiuno osservate negli altri Infusori, ma anzichè esser prodotte dal digiuno — un abbondante nutrimento non impedisce la formazione dell' epidemia — son causate dallo spessore piccolo della cultura. Una volta formate le coniugazioni, una volta in via di terminare l'epidemia, il numero degli individui liberi nella cultura diminuisce progressivamente, aumentando invece le cisti, le cisti durature questa volta, oltre quelle di divisione; e ciò indipendentemente da ogni disseccamento. L'epidemia di coniugazioni seguita dall' incistidamento ci ricorda

quei Protozoi in cui la copulazione avviene sotto ciste; o siano i *Colpoda* uno stadio di avviamento verso questa condizione, o piuttosto da questa verso quella degli Infusorî che si coniugano indipendentemente da ogni fenomeno di incistidamento, essi costituiscono in ogni modo un anello di congiungimento tra le due forme diverse di unione sessuale, rimaste fino ad ora — a quanto mi sembra — disgiunte da un salto.

Da un' altra parte possiamo anche considerare le particolari condizioni nelle quali l'epidemia si produce. Evidentemente il modo di reagire del *Colpoda*, non deve ritenersi abbia la sua ragion d' essere nella risposta a quelle particolari forme di culture, in cui gli Infusorî sono stati posti negli esperimenti; bensì deve essere in accordo colle condizioni biologiche normali di questi Infusorî. Ora, è evidente che in natura lo strato del liquido in cui vivono i *Colpoda* non è sempre sottile, ma soltanto quando si avvicina il momento del disseccamento; ed a questo segue per lo più una diffusione delle cisti in altri ambienti; dato ciò, che non è altro che una semplice constatazione di fatto, ne seguono due interessanti considerazioni. Se le coniugazioni — come discuteremo più avanti — hanno per effetto principale il mantenimento della fissità della specie, si capisce bene che esse si producano al momento in cui più facile è la separazione degli individui che prima erano vissuti insieme. D'altra parte, vediamo che qui si produce la coniugazione in condizioni perfettamente analoghe e quelle in cui si produce in un numero grandissimo di Protozoi e di altri organismi; se consideriamo p. e. i parassiti, in essi è fenomeno ordinario quello dell' intercalazione di generazioni sessuali, in mezzo a generazioni agame, quando da un' ospite passano in un altro. O reciprocamente, il che è lo stesso, per passare da un ospite ad un altro è necessaria la produzione di un germe fecondato. Tutto l'insieme di questi fatti ci conduce sempre più a ritenere la nostra specie come connessa coi Protozoi più semplici, assai più che non lo siano gli altri ciliati; si hanno in particolar modo dei punti di somiglianza colle Gregarine.

2. Influenza dei liquidi: scambî tra Colpoda e liquidi di varie culture.

Gli esperimenti sopra riferiti, la reazione dei *Colpoda*, per la quale essi si coniugano negli strati sottili, non avviene sempre; se le culture son capaci di dare coniugazioni, le dànno solo nelle condizioni suddette; ma spesso non le dànno in nessun modo; lo strato sottile

è cioè condizione necessaria, ma non sufficiente, ed ogni cultura non continuativa di *Colpoda Steinî*, dopo un periodo in cui è capace di fornire coniugazioni, cessa di reagire agli strati sottili; in ciò dunque si comportano questi Infusorî come gli altri, nei quali un' epidemia di coniugazioni è seguita dall' impossibilità, almeno finchè non si rinnova o varia la cultura, di nuove coniugazioni. Ma la differenza particolare, consistente nell' aggiunta di quella condizione necessaria che abbiamo studiato, getta viva luce sul perchè, dopo una epidemia, le coniugazioni cessino. Si poteva pensare che ciò dipendesse da che, gli Infusorî essendosi coniugati, i discendenti, individui giovani, non maturi sessualmente, non possano più coniugarsi. Il Colpoda realizza di per sè un bell' esperimento di distinzione dei varî elementi causali: in esso infatti le coniugazioni non si formano in atto nella cultura grande, che invece questa attraversa un periodo nel quale può darle — se gli individui vengon messi in strato sottile — L' influenza delle coniugazioni avvenute, non si può far sentire nella cultura del Colpoda, come in quelle degli altri Infusorî, giacchè nel nostro caso coniugazioni non sono avvenute nella cultura in questione, ma soltanto sappiamo della possibilità che esse avvengano, per gli esperimenti collaterali, fatti con piccole gocce tolte al vaso, ed ivi non rimesse. Eppure, dopo il periodo della possibilità di coniugarsi, questa possibilità cessa, nè più nè meno come dopo le coniugazioni avvenute, nelle culture degli altri Infusorî. È evidente da ciò che negli Infusorî in genere, non sono le coniugazioni avvenute, la causa per cui cessa l'epidemia coniugativa; bensì altre condizioni, che si devono svolgere nel liquido culturale, indipendentemente dal fatto delle coniugazioni.

A conferma di questo modo di vedere, pensai di fare il seguente esperimento: avendo due culture di *Colpoda Steinî*, delle quali una reagisca, dando coniugazioni in strato sottile, e l'altra no, unire i Colpoda dell' una al liquido dell' altra, e viceversa, e vedere poi se ed in quale di queste unioni si formino coniugazioni. La realizzazione pratica di questo esperimento è piuttosto difficile, ma si riesce con qualche accorgimento a mettersi nelle condizioni volute, con grande approssimazione. Non è possibile trasportare da una cultura i soli *Colpoda*, senza un poco del loro liquido; ma se la cultura è molto ricca, si può ridurre questo liquido ad una quantità minima; basta prendere una minutissima gocciolina dalla superficie superiore della cultura, col polpastrello del dito; osservando al microscopio il resul-

tato del tentativo eseguito, spesso si trova per così dire una massa di organismi viventi, addossati talmente, da formare quasi un corpo solo. Per prendere invece il liquido senza gli Infusori, si immerge una pipetta nella cultura, qualche cm sotto la superficie superiore, e si aspira lentamente, senza scuotere affatto; la cultura stessa, sarebbe inutile dirlo, non doveva esser mossa almeno da qualche ora. Il liquido raccolto contiene pochi o punti *Colpoda*; si divide in minute goccioline sopra ad un vetrino, e si scartano, esaminandole al microscopio, tutte quelle che contengono *Colpoda* o sue cisti. Si riesce così con un poco di pazienza a mettere insieme una certa quantità di liquido senza *Colpoda*, ricco invece di Batterî, un liquido che non corrisponde proprio esattamente a quello in cui si trovano i *Colpoda* nella cultura, ma che gli assomiglia; le sostanze disciolte sono probabilmente le stesse, ed approssimativamente in uguale proporzione; la differenza maggiore dipende dal fatto che alla superficie, dove vivono i *Colpoda*, si trovano Batterî e Flagellati in maggior quantità che nello strato sottostante da cui il liquido è stato preso. Ma, come vedremo, questa differenza, che non saprei davvero come meglio evitare, non impedirà la riuscita dell' esperimento.

Comincio col riferire uno degli esperimenti, come esempio:

8. 2. 06. Ho 4 culture di *Colpoda* di cui, per le prove fatte negli ultimi giorni scorsi, una reagisce dando coniugazioni (cultura A), le altre no (culture B, C, D). Preparo una coppia di tubetti (uno orizzontale ed uno verticale), con ciascuna delle culture B, C, D, e 5 coppie colla cultura A.

Il 9. 2., c' è epidemia di coniugazioni nei 5 tubetti orizzontali di A., nemmeno una in tutti gli altri. I tubetti di B non han dato mai coniugazioni, nemmeno nei giorni seguenti, quelli di C e di D (orizzontali!) ne hanno date alcune, respettivamente il 14 e il 16 del mese; ciò non potevo prevederlo il 10, ma per l' appunto scelsi per l' esperimento che segue, la cultura B, che non reagì affatto.

Il 10. 2., prendo da un tubetto della cultura A, orizzontale e ricco di coniugazioni, una certa quantità di liquido senza *Colpoda*, e ne pongo due gocce rispettivamente in due vetrini da cameretta umida. In una delle gocce aggiungo *Colpoda* dalla cultura A, nell' altra dalla cultura B (che non dà coniugazioni). Faccio poi l' inverso, prendendo i *Colpoda* dal tubetto orizzontale di A, e mettendoli in una goccia del tubetto orizzontale di B; per riprova, in un' altra goccia pongo *Colpoda* e liquido B. Ho ottenuto coniugazioni, il giorno seguente, in tutte le gocce, tranne nell' ultima. Ossia, la cultura che non dava di per sè coniugazioni, non le ha date veramente, nemmeno in questa prova di confronto. Quella che le dava, ha seguitato a darle, anche prendendo il liquido ed i *Colpoda* con quella tecnica speciale, adoperata per fare le mescolanze di culture diverse. I *Colpoda* della cultura che reagiva si sono coniugati anche nel liquido della cultura cattiva; e quelli della cultura cattiva — e che non si sono coniugati nel proprio liquido, si sono invece coniugati nel liquido della cultura buona.

Lo stesso esperimento feci due giorni dopo, colle stesse culture e con molti vetrini. Questa volta il resultato fu diverso nella mescolanza dei *Colpoda* della cultura buona, mescolati col liquido della cultura cattiva: mancarono anche qui le coniugazioni.

Esperimenti analoghi li feci ponendo le solite 4 mescolanze in altrettanti tubetti orizzontali; liquidi e *Colpoda* son tolti direttamente dalle culture madri. Ho trovato coniugazioni nei tubetti con liquido della cultura buona, e *Colpoda* dell' una o dell' altra; non ne ho trovate in quelli del liquido cattivo, più *Colpoda* della stessa o dell' altra cultura.

Riassumendo questi ed altri numerosi esperimenti similmente condotti, posso concludere che *il liquido di una cultura che dà coniugazioni, è capace di indurre a coniugarsi i Colpoda di una che di per sè non ne dà; viceversa, i Colpoda di una cultura che dà coniugazioni, non si coniugano più quando vengon messi nel liquido di una cultura che non ne dà.* Ambedue questi fenomeni si producono molto spesso, ma non sempre; ciò però evidentemente non toglie il loro valore; l' influenza del liquido ambiente nella produzione delle coniugazioni ne resulta direttamente dimostrata. Devo anche dire che le eccezioni riguardanti il caso dell' unione di *Colpoda* di cultura buona con liquido di cultura cattiva, si sono verificate quando per l' appunto avevo osservato che i *Colpoda* non erano tanto privi di liquido come di consueto; e che la mancanza delle coniugazioni nelle mescolanze di *Colpoda* della cultura cattiva con liquido di quella buona, ben si può spiegare con il fatto accennato sopra, che il liquido raccolto in uno strato un poco profondo, non è esattamente lo stesso di quello raccolto direttamente alla superficie della cultura.

Ecco dunque che, come ci proponevamo, con questi resultati veniamo a mettere in più chiara luce il fatto che una cultura lasciata a sè, prima non dà coniugazioni, poi traversa un periodo in cui è capace di darle, poi di nuovo cessa di darle. Ciò non dipende da misteriose condizioni svolgentesi negli Infusorî, ma le *modificazioni del liquido ambiente giuocano la prima parte nelle differenze osservate.*

3. Influenza delle generazioni agame sulla produzione di coniugazioni.

Un altro punto abbiamo anche trattato per il *Colpoda*, secondo il programma propostoci, cioè la *formazione di coniugazioni*

dopo poche generazioni agame da alcuni exconiuganti. Isolando delle coppie di *Colpoda* in piccole culture, non sempre si riesce ad avere in esse presto delle coniugazioni, data la gran tendenza alla produzione di cisti durature. Ma gli insuccessi non tolgono valore ai casi positivi, in cui l' esperimento è riuscito. Cito qualche esempio.

5 coppie isolate e riunite in una goccia, hanno dato origine a circa 50 individui dopo 5 giorni, avendo ricevuto per alimento un buon infuso di fieno; a questo punto se ne lasciano nella goccia 12, che nei giorni seguenti non formano coniugazioni, tendendo invece all' incistidamento; degli altri se ne mettono alcuni in tre gocce, e precisamente 14 in una, 4 e 3 nelle altre due; in tutte e tre si trasportano i *Colpoda* con pochissimo del loro liquido, allungando con acqua potabile. Il giorno seguente, le due gocce con 4 e 3 sono andate in malora, per cause estranee all' esperimento, in quella che aveva 14 *Colpoda* ce ne sono circa 30, ed alcune coniugazioni son contenute. È difficile che questi individui si trovassero più che alla sesta generazione, a partire dalle coppie che erano state isolate.

Un altra volta ottenni coniugazioni tra 100—150 individui derivanti da 1 sola coppia dopo 8 giorni, ed avendo dato per alimento nell' ultimo giorno il liquido di una cultura che dava coniugazioni in strati sottili. Qui si era circa all' 8ª generazione.

È interessente notare come l e coniugazioni si siano ottenute appunto facendo agire sulle piccole culture quelle condizioni di ambiente che sono in generale atte a produrle; rimane insomma dimostrato che, pur di avere determinate condizioni esterne, i Colpoda possono coniugarsi dopo pochissime generazioni dalle coniugazioni precedenti.

Con questi esperimenti, altrettanto difficili e lunghi a condursi ad effetto, quanto facili e brevi a raccontarsi, ho terminato di riferire le principali ricerche che ho fatto con questa specie.

Si spiega dunque per essa quale influenza abbiano le piccole culture, al confronto delle grandi, ed indipendentemente dalla maggior rapidità con cui gli Infusori finiscano il cibo che è a loro disposizione.

Clara Hamburger dice che Bütschli (76) e Maupas (89), ed essa stessa hanno osservato l' influenza delle piccole culture, ma non ne dà spiegazione; anzi si meraviglia che in condizioni apparentemente uguali le cose vadano diversamente. Forse le ricerche future metteranno in evidenza sempre nuovi elementi causali e determinanti della coniugazione, condizioni che si possono svolgere nei piccoli ambienti più presto che nei grandi. Veramente il Maupas dice ripetutamente che la più rapida scarsezza del cibo che in esse si

prodnce debba essere la cansa della differenza. Ma non è probabilmente la sola; dei Parameci che si trovino in una grande cultura di cui non venga rinnovato il liquido, si moltiplicano con tanta rapidità, che in pochi giorni il loro numero, rispetto al volume od alla superficie del liquido diventa straordinario, anche molto maggiore che non in un esperimento in piccola cultura che venga preparato per ottenere coniugazioni; eppure nel caso della cultura grande esse non vengon affatto, o si fanno attendere molto più che nella piccola. Invano però ho fino ad ora tentato esperimenti con questa specie per cercare di scindere nei suoi elementi la diversità di condizioni nelle diverse culture. La relativa rarità di snccesso nell' ottenere con essa coniugazioni mi ha impedito di trarre delle conclusioni.

IV. Condizioni determinanti la coniugazione nel Chilodon uncinatus (EHRBG).

Questo genere offre, come è noto, una particolare difficoltà nei trasporti degli individui da un vetrino ad un altro, massime delle coppie in coniugazione, perchè quando si applica la pipetta per trarli su con un poco di liquido, essi aderiscono invece fortemente al vetro. Non però che sia impossibile il vincere tale difficoltà; bisogna osservare attentamente al microscopio la posizione dell' individuo che si vuole aspirare, e poi avvicinare la pipetta rapidamente, con mossa sicura e decisa, andando proprio sopra all' individuo stesso; allora per lo più esso viene su; altrimenti si può ritentare le prova, dopo però avere atteso qualche istante, perchè esso si sia rimesso in moto.

Per gli esperimenti che ho fatto con questa specie ho adoperato esclusivamente una cultura continuativa, derivata da un individuo isolato l' 1. 2. 06. — La cultura divenne presto ricca, grazie al buon nutrimento, che però non era tale da far moltiplicare i *Chilodon* in numero straordinario. Allora l' 1. 3. 06 sostituii un infuso più ricco del solito, anzi ricchissimo di Batterî, ed il 2 notai un aumento grande del numero dei Chilodon, ed un gran numero di divisioni. Il 3 l' aumento è più notevole, e si trovano coniugazioni. Anche il 19 sostituii un infuso ricchissimo, ed osservai già il 20 una coniugazione, il 21 molte. Quando veniva sostituito un infuso non molto ricco di alimento, non si palesava tale intensa reazione. Essa era apparentemente dovuta all' aumento dell' alimentazione, ma in

realtà alla diminuzione che ne seguiva. Infatti, prendendo una piccola quantità di *Chilodon*, e mettendoli in una discreta quantità di quello stesso infuso ricchissimo che causava le coniugazioni nella cultura originaria, gli Infusori si moltiplicarono rapidamente, con molte forme di divisione visibili, ma senza coniugarsi per molti giorni. Vuol dire che in quelle culture già ricche di *Chilodon*, nelle quali si aumenta notevolmente il mangiare, l'aumento rapido degli Infusorî, che ne consegne, stabilisce tosto la formazione di condizioni opposte, di scarsa alimentazione.

Culture in piccoli vetrini dànno facilmente coniugazioni con questa specie, togliendo gli individui da una cultura ben nutrita. È da notarsi però che coniugazioni sporadiche si possono trovare anche in vasi che contengon liquido poverissimo di alimento, ove i *Chilodon* vivono stentatamente da mesi.

Gli esperimenti che ho fatto, sistematicamente, sono i seguenti:

1. Tentativi di prodnzione di coniugazioni tra parenti molto prossimi; essi sono riusciti, partendo da un individuo isolato in una goccia, avendo io potuto osservare più di una volta coniugazioni quando i discendenti non erano più di 64. La cosa è difficile, e gli esperimenti con esito positivo li feci circa un paio d' anni fa, mentre in alcuni più recenti, fatti colla cultura continuativa di cui sopra è detto, non riuscii ad avere un' epidemia altrettanto sollecita.

2. Tentativi di produzioni di coniugazioni con discendenti prossimi di exconiuganti. Anche questi non riescono sempre, essendo difficile di produrre rapidamente ed in piccolo le condizioni volute. Il caso migliore è quello di una cultura derivata da 3 exconinganti, rinniti in una piccola goccia; ebbi coniugazioni dopo 6 giorni, quando gli individui erano circa 96, ossia tra la 5ª e la 6ª generazione. Altra volta ebbi coniugazioni da una coppia che aveva dato luogo a poco più di 100 individui (7ª—8ª generazione); gli altri esperimenti hanno avuto un resultato sempre meno rapido.

Anche qui dunque, come nel *Colpoda Steini*, si possono ottenere coniugazioni, senza che una lunga serie di generazioni agame sia trascorsa dalla coniugazione precedente.

V. Opercularia coarctata. Condizioni della coniugazione.

1. Allevamento di questa specie.

Anche con questa specie ho fatto gli esperimenti traendo tutti gli individui da una cultura continuativa, derivata da un individuo isolato il 6. 2. 06. La cultura ha avuto vita rigogliosa durante le principali ricerche qui riferite, ed anche dopo, soltanto dne volte per pochi giorni la ridussi ad un piccolo vasetto con cibo non mutato, essendo io in viaggio. Questo piccolo Vorticellide è prezioso per la ricerca, data la sna grande resistenza; resiste senza difficoltà al disseccamento anche rapido, ma, quello che più conta, quando si trasporta un individuo da un liquido ad un altro, esso non muore; nelle piccole culture, che dànno sempre colle altre specie una percentuale di insuccessi all' atto di formarle, con questa specie ben possiamo dire che non esistono insuccessi. Non ricordo di averne mai avuti, nè ne trovo segnati nei miei appunti. Ciò non è dovuto a cure più speciali che avessi coll' Opercularia, anzi talora per prova trasportai espressamente alcnni individni da un liquido ad un altro assai diverso, ed essi rimasero sempre in vita.

Lasciando la cultura senza sostituire il liquido per qualche giorno, in modo che più facilmente si formi alla snperficie un ricco strato di Infusorî, e poi sostituendo un infuso ricco di Batterî e piccoli Flagellati, talvolta sorgono epidemie di coniugazioni già il giorno seguente, e per più volte di seguito si possono avere delle abbondanti epidemie, con tale pronta reazione, che parrebbe quasi inverosimile esse si debbano al digiuno anzichè alla ricca alimentazione. Ma anche qui l'esperimento decide la cosa nel senso del digiuno, e molto nettamente. In primo luogo, si può assai bene osservare che dopo poche ore dall' aggiunta di nuovo cibo, le Opercularie sono ingrassate, ed invece il giorno seguente, se vi sono coniugazioni, sono anche più magre; ma meglio risponde l'esperimento. Quando le Opercularie sono grasse, dopo poche ore dall' aggiunta dell' infnso alimentare, prendo una piccola quantità del liquido di cultura, e lo diluisco con molta acqua potabile. Un' altra dose circa uguale la diluisco con lo stesso infuso alimentare. Allora succede che il giorno seguente le Opercularie dell' acqua potabile sono magre, e tra esse si trovano molti microgameti e coniugazioni; mentre invece quelle che son state poste in scarso numero entro gran quantità di infuso alimentare. sono grasse e senza coniugazioni; queste cominciano soltanto dopo alcuni giorni, quando anche in questo vaso le Opercularie sono dimagrate e divenute moltissime e fitte.

2. Coniugazioni tra parenti, dopo poche generazioni agame dalla coniugazione precedente.

I primi esperimenti che intrapresi a fare colle Opercularie, avevano il solito scopo, di produrre coniugazioni dopo una corta serie di divisioni, partendo da exconinganti. Per questo scopo procedei all' isolamento di coniugazioni; cosi da una isolata il 26. 2, il 4. 3. si hanno 71 individui, e parecchi microgameti che corrono; due giorni dopo la cultura non è più rigogliosa, ossia le Opercularie smagrite sono in uno stato di inattività ben riconoscibile, e caratteristico del digiuno; allora aggiungo un poco di infuso alimentare, ed esse, dopo essere rapidamente ingrassate, il 7. 2. contengono microgameti e coniugazioni. Una di queste, di nuovo isolata, dà luogo ad un' altra piccola cultura dove il 16. 2. tra circa 120 individui, sono di nuovo microgameti e coningazioni, dopo 7—8 generazioni dalla coniugazione precedente. È da notarsi che questi individui che si coniugano nelle piccole culture, sono anche tra loro stretti parenti, derivando tutti da un' unica coniugazione.

3. La divisione sessuale.

Stavo facendo nuovi esperimenti di qnesto genere, di cui alcuni erano già riusciti con buon esito, quando, per procurarmi più facilmente delle coniugazioni — non sempre facili ad isolarsi anche se ce ne sono parecchie, — pensai di riunire in una piccola goccia una *Opercularia* qualunque, presa dalla cnltura, con due o tre microgameti. Però, con mia grande sorpresa, sebbene ripetessi la prova più volte, non ebbi nessun resultato positivo; cosicchè, mentre abbandonai senz' altro la cosa, come mezzo per avere coniugazioni, cominciai a cercare di chiarire il fenomeno di questa fecondazione artificiale non riuscita. Dopo alcuni giorui, osservando attentamente le culture che erano ricchissime di coniugazioni, potei scorgere alcune formazioni molto caratteristiche, che mi misero sulla strada dell' esperimento.

Come è noto, nell' *Opercularia* si formano i microgameti da una divisione ineguale, che dà origine a 2 individui di diversa dimensione; il più piccolo si divide in due microgameti, che presto si staccano; qualche volta — io lo ho osservato rarissimamente — si divide ancora, si da produrre 4 microgameti anzichè 2.

Due Opercularie, una grande normalmente ed una piccola — padre dei microgameti — si trovano spesso attaccate tra loro, ed isolate da ogni altra cosa, nel liquido delle culture; o, in stadio poco

più avanzato, una *Opercularia* di apparenza normale, con i 2 microgameti che ancora non si sono staccati, o con uno solo, essendo già distaccato l'altro. Mi capitò di vedere una Opercularia in coniugazione, la quale aveva ancora uno o tutti e due i suoi microgameti attaccati; e queste curiose formazioni trovai ripetutamente. Allora pensai che ciò non fosse un caso, ma che appunto fossero destinate alla coniugazione, come macrogameti, quelle Opercularie che eran sorelle dei microgameti. Sottoposi la cosa ad esperimento, nel modo seguente:

Andai in cerca di individui che avessero attaccati i microgameti, in stadî più o meno avanzati di formazione, ciò poco importava; e ne isolai parecchi, ciascuno in una goccia, osservando poi cosa avveniva, continuatamente sotto il microscopio. Seguii la formazione ed il distacco dei microgameti, ed osservai, come fenomeno costante, che uno dei due microgameti si coniugava subito coll' *Opercularia* sua zia. Anzi, spesso accadeva che uno non fosse ancora distaccato, mentre l'altro era già in coniugazione; e mi accadde perfino di osservare che tutti e due i microgameti si attaccassero all' *Opercularia*, conducendo avanti la coniugazione, in quella forma anormale corrispondente alla polispermia, che si osserva non di rado nei Vorticellidi. Di fronte a questo fenomeno constante, ripetuto in moltissimi esperimenti, sta l'altro pure costante della mancata coniugazione, unendo microgameti ed Opercularie prese a caso nel liquido. Combinai anche le due cose: un' *Opercularia* con due microgameti non ancora staccati è unita, in una piccola goccia, con un' altra *Opercularia* qualunque; si staccano i microgameti, uno entra in coniugazione colla zia, l'altro seguita a correre per la goccia, restando qualche ora indifferente di fronte alla *Opercularia* straniera. Un' altra *Opercularia* con due microgameti, dà luogo allo stesso fenomeno, di coniugazione, mentre uno dei due microgameti resta a spasso; allora prendo i due microgameti avanzati da questi due esperimenti, e li unisco con una nuova *Opercularia*, presa dalla cultura; non avviene coniugazione. Altre volte unii parecchie Opercularie con parecchi microgameti, sempre senza poter avere coniugazioni. Naturalmente potei produrre senza difficoltà alcuna la coniugazione tra Opercularie che avevano a fianco i microgameti, ed altri microgameti estranei, nonloro parenti.

Questi esperimenti sono affatto sicuri; nel corso di un anno li ho ripetuti ogni tanto, sempre collo stesso resultato. È evidente che, se nel pescare una *Opercularia* dalla cultura, si prendesse per l'appunto una che avesse avuto a lato i microgameti, ormai distaccati, allora si dovrebbe produrre la coniugazione; ma questo caso non si

verifica in pratica, sia perchè le Opercularie con microgameti rappresentano anche nei migliori casi, di forte epidemia, una percentuale assai piccola tra le altre, sia perchè quelle che hanno formato microgameti si coningano subito, prima che questi siano distaccati, essendoci nel liquido dove si svolge l'epidemia numerosi microgameti che girano. Osservo incidentalmente che questo fenomeno ricorda il caso di fiori ed animali ermafroditi, in cui o per una disposizione anatomica, oppure per la maturazione in tempi successivi delle cellule germinali dei due sessi, è impedita o resa quanto mai improbabile la fecondazione tra i germi dello stesso individuo. Qui, nelle Opercularie, tale fatto non è impedito assolutamente, tanto che si può produrre negli esperimenti di isolamento, ma reso poco probabile, nella vita ordinaria della specie.

Vi è dunque nna divisione, che possiamo chiamare „sessuale", per la quale da un individno neutro — incapace di coniugazione — si forma contemporaneamente un maschio (che si riduce in due microgameti) ed una femmina.

Un fatto di tal genere era stato intraveduto da Engelmann nell' *Epistylis*, ma non da altri raccolto, nè da lui dimostrato; egli aveva osservato che nelle grandi colonie di *Epistylis*, le coniugazioni ed i microgameti si formano non in tutta la colonia contemporaneamente, ma prima da un lato; e dallo stesso lato si trovano contemporaneamente le une e gli altri. Queste osservazioni però non dimostrano nulla, perchè la differenza tra un lato e l'altro è manifesta di per sè, dato che in uno solo si formino i microgameti; e dipenderà evidentemente dalle diverse condizioni di alimentazione. Ora, sarebbe molto strano che fossero differenti le condizioni capaci di produrre microgameti, da quelle che ne permettono l'unione coi macrogameti; chè se tali condizioni determinanti debbano essere le stesse, allora è evidente che dallo stesso lato ove si formano microgameti, si debbano trovare anche le coniugazioni e reciprocamente; l'osservazione di Engelmann toglie la possibilità che in *Epistylis* vi siano grossi rami differenziati in sesso maschile e femminile, *in toto*, ma non implica nulla sulla natura particolare e sulla particolare origine di quei determinati individui che entrano in coniugazione. — Più notevole è l'altra osservazione, che le coniugazioni avvengano in individui che già hanno eliminato microgameti. Ma come si può avere tale certezza? Forse non è possibile che si distacchino dalla colonia altri individui, a cui attribuire i posti vuoti? E come

riconoscere in ogni caso nella grossa colonia, che l'individno in coniugazione abbia accanto i rametti vuoti dei microgameti distaccati da lui? Infatti, ENGELMANN stesso esprime il dnbbio che il fenomeno non sia costante, ed il BÜTSCHLI, nel dire della coniugazione dei Vorticellidi (Protozoa pag. 1628) nega che sia dimostrato che fungano da macrogameti speciali individni, tranne nel caso di quelle specie che li hanno morfologicamente riconoscibili; però, aggiunge, sembra che nell' *Epistylis* la coniugazione avvenga sempre o solo preferibilmente con quegli individui ecc.:

„Als Makrogonidien funktionieren bei allen Gattnngen mit Ansnahme von *Zoothamnium* die gewöhnlichen Individuen. Wenigstens ergaben die seitherigen Beobachtungen keine Anzeichen, daß nur bestimmte Individuen normaler Größe hierzn dienen. Dennoch weisen ENGELMANN's Untersuchnngen (1876) vielleicht auf etwas derartiges hin. Bei *Epistylis plicatilis* konstatierte er nämlich, daß die Mikrogonidien sich immer oder doch vorzugsweise mit solchen Individuen (Makrogonidien) vereinigten, deren Schwestersprößling dnrch Teilnng in Mikrogonidien zerfallen war."

Il BÜTSCHLI stesso, che aveva isolato nello stesso anno 1876 individui di *Vorticella nebulifera* nell' atto della gemmazione, non aveva osservato coniugazione trai derivati di questa divisione, probabilmente perchè il suo scopo era diverso, cioè soltanto qnello di distingnere gli stadî della formazione dei microgameti da qnelli della coniugazione.

Tanto per la storia. Quanto a me, in seguito agli esperimenti fatti, non ritengo possibili eccezioui, non ritengo che si tratti di una vaga preferenza dei microgameti per una certa categoria di individui, ma vedo nella storia della divisione sessuale nn fatto che è l'espressione di qnalche cosa di molto intimo e molto profondo, e che probabilmente in qualche modo deve avere corrispondenza in moltissimi altri organismi, rignardo alla formazione dei sessi.

Gli esperimenti hanno anche dimostrato la possibilità di coniugazione tra parenti strettissimi. Onde riconoscere se essa decorresse normalmente, conservai alcune delle coniugazioni così ottenute, formando altrettante piccole culture, ove presto si riformarono microgameti e coniugazioni, ed anche tra parenti, al solito, mediante l'isolamento.

4. Partenogenesi dei macrogameti.

D'altra parte si è aperta anche la questione se quelle Opercularie che fungono da macrogameti, siano destinate necessariamente

alla coniugazione, oppure possano dividersi come tutte le altre, senza essersi coniugate.

Onde risolvere tale questione, isolai alcune Opercularie che avevano a fianco i due microgameti non ancora staccati, e quando questi si staccarono, li tolsi, lasciando ciascuna *Opercularia* femmina sola in una goccia. Il giorno seguente la divisione era avvenuta in ogni cultura; allora aggiunsi microgameti tolti da altre Opercularie, ma non si formò nessuna coniugazione; ritolti i microgameti dopo alcune ore, osservai che in uno dei casi si formarono microgameti di nuovo, alla seconda generazione dall' individuo femmina primitivamente isolato; pochi giorni dopo se ne formarono numerosi in tutte queste piccole culture.

Questo esperimento mostra all' evidenza che l' Opercularia femmina può dividersi normalmente, e che già quando essa è divisa in due ha perduto completamente la sua femminilità, tanto che essa non è più suscettibile di coniugazione; ma più caratteristico ancora in questo senso è il fatto che già dopo la seconda generazione si è potuto un individuo dividere sessualmente; questa è prova chiarissima che la femmina si era di nuovo trasformata in un essere non differenziato sessualmente. Se si voglia interpretare la sua prima divisione come partenogenesi, è però da osservare che si tratta di una partenogenesi *sui generis*; nella quale da una femmina si producono due ermafroditi, o meglio due neutri, capaci di formare i due sessi al momento opportuno.

La questione analoga per i microgameti, se essi pure possano, isolati, ricostituirsi ad individui completi, pareva già a priori che dovesse avere risposta negativa; pure la sottoposi a varie prove, che ebbero appunto resultato negativo.

Questa partenogenesi dei macrogameti, ricorda un fenomeno analogo riscontrato in altri Protozoi, p. e. dal Pittaluga nella *Laverania*; ma da quel caso differisce, in quanto qui come abbiamo detto, e non in *Laverania*, la divisione toglie al macrogamete la facoltà di essere fecondato; in ciò si può dire che il macrogamete differisce anche dal microgamete della stessa. Opercularia stessa, in quanto che, se non è mai stato possibile di osservare una divisione dei microgameti liberi, il primo prodotto della divisione sessuale si divide, per formare i due microgameti, anzi questi stessi possono andare incontro ad una divisione ulteriore, in rari casi, formando una rosetta di quattro microgameti, che poi si distaccano.

5. Alcuni raffronti.

Qui dobbiamo ricordare alcnui fatti, relativi ad altri Protozoi, nei quali la coniugazione tra stretti parenti torna in ballo; e, evidentemente, se essa sia connessa colla anisogamia, allora il problema della divisione sessuale si mostra come probabilmente risoluto in senso affermativo. Se in alcuni casi l' origine dei gameti che si uniscono è chiaramente dimostrata avvenire da individui diversi, in altri, come nelle Gregarine studiate dal CUÉNOT, che le cose passino in questo modo è ritenuto probabile forse più per l' applicazione al caso singolo di un principio generale, che per una verificazione diretta; non si ha in ogni modo la prova della necessità del fatto.

R. HERTWIG, nell' *Actinosphaerium eichhorni* (99, 1) ha invece dimostrato che normalmente avviene una copulazione tra cellule sorelle (cisti secondarie); questo è però un caso del tutto particolare, che non si avvicina al nostro della *Opercularia*, perchè questa coniugazione dell' *Actinosphaerium* non è l' unica che in esso si produca; l' A. non ritiene inverosimile che animali diversi si copulino, e che dopo questa copulazione provvisoria ne avvenga una definitiva tra sorelle, nei discendenti della coniugazione tra estranei. Siamo dunque in presenza di fenomeni complicati e per il momento incomprensibili nei loro intimi meccanismi, nonostante le lunghe e belle ricerche di R. HERTWIG; ma l' unione sessuale segue in fondo le leggi generali. Non così nelle Desmidiacee (citate da R. HERTWIG), nelle quali DE BARY ritiene verosimile che le cellule che si uniscon per formare la spora duratura, derivino da una stessa madre; e KARSTEN (97) venne per l' *Achnantes brevipes* allo stesso resultato. Recentemente anche LOEWENTHAL descrive in *Basidiobolus lacertae* la copulazione, che avviene tra sorelle; una certa differenza di grandezza, ma non notevole, sembra l' unico differenziamento sessuale riconoscibile.

Questi casi sono da HERTWIG paragonati a quelli di partenogenesi, nei quali, secondo BRAUER 93, l' uovo maturo viene fecondato dal secondo globulo polare. Io però mi permetto di manifestare un dubbio; ed è che, come la partenogenesi non è spesso un fenomeno normale, nè unico anche nelle specie che la presentano, come nell' *Opercularia* la coniugazione tra strettissimi parenti è possibile, e così nel *Chilodon*, ma pur non costituisce la regola, come nell' *Actinosphaerium* è la regola la copulazione tra sorelle, ma non è verosimilmente l' unica che esista nel ciclo vitale di questo organismo, — così anche nei casi sopra citati sia da ricercare se non esista nel ciclo vitale una forma diversa di copulazione, la quale si compia tra

ematossilina Heidenhain, e col metodo della doppia colorazione al individui di diversa origine, e che venga in certo modo alternata con l'unione sessuale tra sorelle. Quest' ultima forma di unione sessuale, si mostra insomma come possibile, in molti casi, ma costituirebbe l'unico modo possibile solo in pochissimi; e sembra che questa eccezione contraddica alla regola generale, ed allo *scopo* per così dire dell' unione sessuale stessa. Ma di questo discorreremo più avanti.

VI. Opercularia coarctata. I fenomeni minuti della coniugazione.

Il primo punto di collegamento tra gli esperimenti fatti fin qui, ed i minuti processi che vado a descrivere, è stato quello di ricercare se il gamete femminile sia differente o no dalle comuni Opercularie. Di più, lo studio del micronucleo poteva collegarsi in modi imprevedibili a priori con le questioni fino ad ora trattate. E ciò avvenne infatti, come vedremo. Ma ora devo in certo modo rompere la catena dei ragionamenti, per descrivere con ordine i processi citologici.

I metodi di osservazione che ho adoperato sono i seguenti: Osservazione sul vivente, seguendo il processo della coniugazione sopra ad uno stesso individuo. Ciò ho potuto fare mediante le mie camerette umide, ponendo una Opercularia in goccia pendente, durante la coniugazione; avevo prima sparso uno strato sottilissimo di albumina glicerinata sul vetrino, dove ho posato la goccia; così la goccia si è sparsa e la ho resa anche più sottile aspirando un poco di liquido con una pipetta. In tali condizioni ho potuto osservare molte volte i processi minuti, con i più forti obbiettivi ad immersione, dal di sopra. — Osservazione di preparati *in toto*. — Osservazione delle sezioni, colorate coi metodi indicati nei cenni tecnici.

1. Divisione comune, e divisione sessuale.

Cominciando a dire poche parole della divisione sessuale, dirò che non mi è stato possibile riconoscere in essa alcuna differenza dalle ordinarie divisioni, tranne quello che è dovuto alla sua asimmetria. Come cominci la divisione in generale, è qui molto interessante. Se noi osserviamo un macronucleo nelle sezioni all' infuori della divisione, notiamo in esso una grande quantità di corpi rotondeggianti più o meno grandi, che si tingono intensamente coll'

carmino boracico e verde metile sono debolmente verdi — io li ho rappresentati più in chiaro nella Fig. 47. Il micronucleo non lascia distinguere struttura. A un certo momento accade che la forma generale del macronucleo si altera, divenendo esso bitorzoluto e più grosso; nello stesso tempo i corpi interni si riducono più piccoli, e perdono in parte la differenziabilità dal resto della sostanza, per mezzo dei colori (Fig. 48). In questo stadio il micronucleo è perfettamente normale. Soltanto più tardi, qnando nel macronucleo le modificazioni indicate sono proseguite ancora nello stesso senso, si comincia a vedere il micronucleo allungato nn poco, e differenziato internamente, sì da mostrare un fnso (Fig. 49). Ma la cromatina non si distingue ancora in questo fnso, che non prende verde di metile nè molta ematossilina. Più avanti si differenziano i cromosomi che dalla piastra equatoriale si portano in due masse laterali, rimanendo connessi coi filamenti riunienti (Fig. 1). Intanto anche il macronucleo ha continuato a modificarsi, allungandosi, e riunendo nuovamente la sostanza cromatica interna in corpicciòli più grandi, che dopo la divisione del micronucleo si scorgono allungati, in atto di dividersi; dapprima, nelle primissime osservazioni mi era sembrato che qnesto stadio fosse incompletamente rappresentato nella divisione sessuale; ma invece potei poi trovarne molti casi, di cui ne è rappresentati nelle Fig. 50 e 3; osservando che la 50 rappresenta proprio il principio del fenomeno. Invece la Fig. 51 e la 52 ne rappresentano la fine. Non so come interpretare nn nocciolo di sostanza più cromatica che compare nei micronuclei figli a un certo momento; è di durata transitoria (Fig. 51).

A R. HERTWIG — il cui nome ricorre così di frequente in questo scritto! — dobbiamo l'osservazione (88) che il micronucleo comincia a modificarsi nei Parameci, prima del macronucleo. Dobbiamo però confessare che colle mie osservazioni sull' *Opercularia coarctata*, la qnestione torna di nuovo un passo indietro. Non abbiamo potuto cogliere un micronucleo manifestamente modificato — inizio della divisione — senza che il macronucleo già lo fosse, e ciò nonostante che il micronucleo sia in qnesta specie, qnando è nel così detto stato di riposo, più lontano dalla divisione che non quello dei Parameci, ove una distinzione tra parte cromatica ed acromatica esiste sempre. Evidentemente, qui come dappertutto, non si possono stabilire leggi generali.

Citiamo anche l'osservazione di STEVENS (03) nella *Boveria subcylindrica*, ove la divisione del macronucleo comincerebbe molto tardivamente, qnando il micronucleo già è diviso.

Bisogna però tener conto non del principio della divisione, ma del principio delle modificazioni interne.

Il Fauré-Fremiet (04 1) ha descritto dei complicati processi, nella divisione del macronucleo, qnando l'*Opercularia stenostoma* si scinde; evidentemente, quelle masse in cui esso si ridurrebbe, secondo l'A., masse destinate successivamente almeno in parte a distruggersi, sono fenomeni che si osservano nella coniugazione e nelle divisioni successive ad esse, che non hanno ancora consumato tutti i resti dei vecchi macronuclei. Tutto ciò che si sa della divisione degli Infusorî, e la descrizione della divisione nella *Opercularia coarctata*, in base alle mie osservazioni, impediscono affatto di poter credere a questi fenomeni, brevemente descritti dal Fauré-Fremiet, troppo brevemente data la loro stranezza.

Dalla nostra descrizione è anche resultato quanto sarebbe fuor di luogo — per l'Opercularia, pensare ad una cariocinesi del macronucleo; a questo proposito ricordiamo soltanto che fino dal 1884 Gruber aveva osservato nel macronucleo in divisione dei ciliati, strie che vengon tagliate per metà; e concludeva che la divisione dei Metazoi, nei Protozoi è più semplice — cosa che oggi assume un aspetto diverso visto che il micronucleo si mostra a questo rispetto ben più completo del macronucleo. Nell'Opercularia è forse più che negli altri accentuato il fatto che queste strie che si dividono hauno una disposizione irregolare e non vanno da parte a parte del corpo nucleare, — sepure in molti casi dove le descrizioni fatte suonano altrimenti, non vi è molto da rivedere, e da temere che un concetto quasi antropomorfico, abbia potuto falsare un poco la verità, tendendo a far assomigliare — quanto era possibile — la divisione del macronncleo, a quella dei nuclei in generale.

Da questo dubbio credo però si debbano escludere senz'altro le osservazioni accurate di R. Hertwig sopra a *Spirochona gemmipara*; si tratta però di un Infusorio ben lontano da quelli che uoi abbiamo studiato!

Concludendo per ciò che si riferisce alla divisione sessuale, possiamo dire che essa decorre come le divisioni ordinarie.

2. Individui neutri e macrogameti.

Se non è possibile trovare caratteri differenziali a proposito della divisione sessuale, non lo è nemmeno a proposito degli individui femminili che ne derivano; essi hanno un aspetto che li distingne

dagli individui ben pasciuti delle culture riccamente nutrite, e ciò si capisce; ma non differiscono in nessun modo visibile dagli individui poco nutriti, non sessualmente differenziati. Ho fatto anche delle misure, per decidere se una differenza quantitativa, nei rapporti delle varie parti, si potesse scoprire. E riporto una tabella esprimente i resultati ottenuti.

Larghezza in micron, del			Larghezza in micron, del			
macronucleo	micronucleo	corpo cellul.	macronucleo	micronucleo	corpo cellul.	micronuclei maschili
3,4—4,6	2,6	24	2,9—4,6	3,4	25	3,4
5,7—3,4	3,1	40	2,9—3,4	3,1	25	2,9
2,9—6,9	4	33	3,4—4,6	3,7	29	3,7
4,6—6,3	2,9	40	3,4—4,6	3,6	27	3,6
4—5,7	3,4	29	2,9—4,0	3,8	27	3,8
4,6—5,7	3,4	31	3,1—3,4	3,1	26	3,4
4—5,8	2,9	35 } sorelle	4—6	2,9	29	2,9
2,3—5,7	2,6	26 } sorelle	2,9—4	3,1	27	3,1
4—5	3,4	27	2,9—4,6	3,1	33	3,4
4—6,7	3,4	25	2,9—4	2,9	27	3,1
3,4—5,7	3,4	27	3—4	2,9	24	3,4
4,6—5,4	3,1	43	3,4—4	3,1	31	3,4
3,7—4,6	3	26	2,9—4	2,9	29	3,4
3,4—4,6	2,9	24	3,4—4,6	3,7	29	3,7
3,4—4	2,9	26	4—4,6	2,9	27	2,9
4,6—5,7	3,4	29 } sorelle	2,9—4,6	3,4	31	4
4,6—5,7	2,9	27 } sorelle	2,9—4	3,4	31	3,1
4,4—4,8	2,9	27	2,6—4	3,4	31	3,4
4,6—6,9	3,7	33	4—4,6	3,4	25	3,4
4,6—5,7	3,4	38	3,4—4,6	3,7	29	3,1
4—4,6	3,7	26	3,4—5,7	4	29	
3,4—5,7	3,7	25	3,3—4	3,4	29	
4,6—5,7	2,6	38	3,4—4	3,4	26	
4,6—6,3	3,4	39				
4,6—6,9	2,6	38				
3,3—4	3,4	25 } sorelle	3,4—5,1	3	29	3,1 3,4
3,4—4,6	3,1	26 } sorelle	2,9—4,6	3,4	31	3,2 3,4
2,9—4,6	2,9	31	3,4—4,6	3	27	2,3 2,5
2,9—4,6	2,3	26	3,3—4	3,4	29	2,6 2,8
4—4,6	3,1	31	4—6	3,4	33	2,9 3,4
4,6—5,7	3,1	29 } sorelle	3,4—4,6	4	35	3,2 3,4
3,4—4,6	2,9	29 } sorelle	3,5—4,5	3,4	29	2,9 3,4
5,7—6,9	4	43				
4,4—6	3,1	33 } sorelle				
3,4—5	2,9	31 } sorelle	2,9—3,4	3,1	25	?
4—6	3,1	31	3,4	2,9	27	2,9
4—5,7	3,1	29	3,1—4,6	3,7	27	3,4
4,6—5,1	3,4	29				
4—5,7	3	27				

Resulta assai evidente la maggior grandezza del macronucleo, negli individui comuni, e ciò indipendentemente dal fatto che essi sono *in toto* più grandi; la grossezza del macronncleo nei macrogameti arriva a 4—4$^1/_2$ micron all' incirca, negli individui comuni è di 4 micron in uno dei casi, mentre in nessun altro caso è minore di 4$^1/_2$, e per lo più è assai maggiore. Analogamente nei punti più stretti arriva circa a 3 micron nei macrogameti, mentre negli individui comuni è qnasi sempre assai maggiore. Quanto al micronucleo, è difficile dire quale differenza vi sia tra le due categorie di individui, giacchè le differenze individuali sono maggiori assai di quelle riscontrabili tra una categoria e l' altra. Se però si confronta il diametro del micronucleo con qnello di tutto il corpo cellulare, allora ne risalta una piccola differenza, nel senso che il micronncleo è relativamente più grande nei macrogameti che negli individui neutri. Ciò si deve però più alla diminuzione della grandezza del corpo, che all' aumento della grandezza sua. Non ho fatto medie di qnesti numeri, essendo essi troppo differenti tra loro, per permettere che le medie abbiano un significato preciso; ma qnesta piccola differenza resulta, dando un' occhiata alla tabella, assai chiara. Infatti, mentre il corpo cellulare dei macrogameti snpera di rado e di poco i 30 micron di diametro, quello dei neutri è per lo più notevolmente più grosso, senza una corrispondente variazione del micronncleo.

Il significato di questi fatti è evidentemente molto maggiore in senso negativo che in senso positivo. Sappiamo infatti che la divisione sessuale si prodnce sotto l' influenza del digiuno, vale a dire in condizioni che riducono il volume generale dell' *Opercularia*, indipendentemente dalla sua differenziazione in macrogamete. Ed anche il macronucleo è ordinariamente molto più grosso nelle Opercnlarie ben nutrite che in qnelle a digiuno; ora, sebbene i numeri riferiti nella tabella, perchè abbiano un maggior valore, siano tolti tntti da uno stesso preparato, è verosimile che le condizioni non siano state le stesse in tutti gli individui, ciò che è dimostrato dal fatto che alcuni, e non tutti, si sono sessualmento divisi; in questi ultimi verosimilmente l' influenza del digiuno si deve essere fatta maggiormente sentire, onde dobbiamo attribuire le piccole differenze osservate più a questo fatto che ad una eventuale connessione colla natura sessualmente differenziata dei macrogameti. Di fronte alla netta differenza fisiologica, abbiamo dunque una completa assenza di caratteri morfologici distintivi, tra macrogameti e individui neutri.

Da ciò passiamo allo studio della coniugazione.

3. Prima divisione, nel microgamete.

Quando il microgamete si attacca al macrogamete, in questo non si possono ancora scorgere differenze dagli individui normali; i suoi nuclei presentano l'abituale struttura. Vediamo ciò nella Fig. 3. Nel microgamete cominciano i primi fenomeni di modificazione, e consistono dapprima in uno scurimento del micronucleo (nei preparati all'ematossilina ferrica). Si cominciano a differenziare delle parti cromatiche (Fig. 53), ma procedendo oltre il fenomeno, tutto il micronucleo si tinge scuramente. Due stadî successivi della divisione sono rappresentati nelle Figg. 4 e 5, nè esiste alcun accrescimento del micronucleo, prima che si formi il fuso cariocinetico. Questa formazione deve ben avvenire per un orientamento della sostanza acromatica, mentre la sostanza cromatica che aumenta tende a portarsi verso il centro; la Fig. 53 rappresenta uno stadio preparatorio di questa formazione; gli stadî immediatamente successivi son piuttosto difficili a esaminare, per la intensa colorabilità generale del micronucleo. Separatisi i cromosomi e portatisi ai poli del fuso (Fig. 5), si compie rapidamente la divisione, sì da aversi due micronuclei nel microgamete, ed uno nel macrogamete (Fig. 6 e 54).

Questa prima divisione è dunqne simile alle comnni divisioni del micronucleo.

4. 1ª divisione di maturazione.

Si può dire che appena ora comincia il macrogamete a modificarsi, e specialmente il macronncleo, in cui si palesa una certa difficoltà alla colorazione; ciò si verifica sia nei preparati *in toto* al carmino e verde metile, sia nelle sezioni trattate col metodo HEIDENHAIN. La Fig. 54 mostra la cosa chiaramente, e mostra anche che la forma del macronucleo comincia ad alterarsi. Nella Fig. 6 si vedono invece i corpi cromatici del macronucleo allungati, ciò che non si osserva nella Fig. 54, la quale è probabilmente tolta da uno stadio di pochissimo precedente. Del resto le cose non sono del tutto chiare a questo riguardo, giacchè anche in uno stadio palesemente successivo (Fig. 56—57) può capitare che l'allungamento dei corpi cromatici non sia palese. Evidentemente non tutte le volte i processi si seguono colle stesso ordine preciso. Vediamo ora il micronucleo del macrogamete leggermente modificato nella sua colorabilità (Fig. 55) o leggermente allungato (Fig. 7), senza che nei due micronuclei del microgamete si possan ancora riscontrare le stesse modi-

ficazioni. Queste sopraggiungono però poco dopo. Infatti vediamo nella Fig. 56 la presenza di parti cromatiche, o per lo meno discretamente cromatiche, tanto nell' unico micronucleo del macrogamete, quanto nei due del microgamete. Però anche qui vi è una piccola differenza, in quanto nel macrogamete il micronucleo ha già una certa struttura a linee parallele, che può considerarsi come il primo abbozzo del fuso (di quale fuso, or ora vedremo). Tale struttura non è affatto riconoscibile nel microgamete. Per ciò che riguarda lo spazio perinucleare (sempre a proposito dei micronuclei), possiamo dire che esso è cresciuto assai a questo stadio, e specialmente nel macrogamete. Si passa poi ad un momento in cui tutti e tre i micronuclei hanno una struttura tipicamente a fuso, come mostrano le Figg. 8, 9, 58. In quest' ultima è da notare che quello del macrogamete non è per nulla più corto degli altri due; esso si presenta tale nella figura, perchè era orientato diversamente dagli altri, sì da apparire di scorcio; credo però fosse più lungo. È da notare che in questo stadio la sostanza del micronucleo si tinge assai omogeneamente in rosa, nella doppia colorazione al carmino boracico e verde di metile, e rimane nei preparati all' ematossilina ferrica di quel colore giallastro che è proprio del mordente; in altre parole, non esiste in questo stadio cromatina — definita la cromatina come una sostanza che si tinge con determinati colori. Si ha dunque a questo proposito un ritorno indietro, rispetto a quel momento in cui cominciavano ad apparire modificazioni nel micronucleo; esse si palesavano appunto per la maggior parte colla comparsa di un poco di cromatina. Le modificazioni che ora subiscono questi fusi acromatici sono veramente straordinarie. Si trova una grande quantità di Opercularie che mostrano stadî del loro progressivo allungamento; con esso va d' accordo un progressivo assottigliamento, ed un raccogliersi delle singole fibre, che, ravvicinandosi sempre più, finiscono per non esser più visibili. Nelle Fig. 61 e 63 sono specialmente visibili queste cose. L' allungamento è notevole specialmente nel micronucleo del macrogamete. Il limite massimo di questo fenomeno è figurato nel suo insieme nella Fig. 11. Qualche volta, ma non sempre, si riesce a distinguere le fibre del fuso anche in questo stadio, come mostra la Fig. 63. È nettissimo il fatto che lo spazio perinucleare è interrotto ai poli opposti del fuso. Anzi qualche volta, come nel caso della Fig. 61, si ha l' impressione che il fuso allungatissimo si seguiti direttamente coi filamenti del citoplasma. Ho assai studiato tale questione, ma non son però riuscito a darne una risposta sicura, e ciò si comprenderà, data la delicatezza

delle strutture. Mentre da un lato si può seguire con sicurezza il progressivo allungamento del fuso come abbiamo descritto, si trovano anche forme, quali sono rappresentate nella Fig. 64 e segg., nelle quali il fuso non è completamente regolare, o contiene specialmente agli estremi un poco di sostanza fortemente cromatica. Mi trovai dapprima imbarazzato nel decifrare questi strani aspetti, e fu specialmente il macronucleo che mi servì a stabilire con sicurezza la successione degli stadî; esso infatti, come vedremo nella sua descrizione, si presenta in questi ultimi casi citati, nettamente più trasformato che nei precedentemente descritti; ed avendo io avuto modo di osservare moltissimi di questi stadî, che si incontrano assai facilmente dove sono coniugazioni, ed avendo trovato questo fatto costantemente, devo concluderne che non resta dubbio sull'ordine degli stadî stessi. Ed ora ecco di che cosa più particolarmente si tratta. Alle estremità del fuso allungatissimo — quando nelle figure il fatto è rappresentato ad una estremità soltanto, ciò si deve al fatto che esse son tolte da sezioni — alle estremità del fuso compare in forma di gocce minutissime, la sostanza cromatica (Fig. 66). Talora il fuso non ha lo stesso aspetto ai due estremi, essendo ad uno appuntato, all'altro un poco sfrangiato (Fig. 64, 65). La sostanza cromatica si può seguire per stadî nel suo aumento quantitativo, e si può anche riconoscere come dapprima appaiano dei granelli un po' più cromatici del resto, ma pur sempre poco cromatici (Fig. 64, microg.). Queste varie forme non credo, dati gli aspetti assai variabili nei particolari che possono assumere, che siano stadî successivi percorsi sicuramente da un sol micronucleo; credo piuttosto che piccole differenze possano esistere nei varî micronuclei quanto al loro sviluppo progressivo, piccole però, giacchè sicuramente tutti arrivano ad uno stadio di fuso allungatissimo acromatico, e poi a quello raffigurato dalla Fig. 68, in cui contengono una massa proporzionatamente notevole di cromatina ai due estremi. Si osservi l'aspetto caratteristico degli spazî perinucleari a questo stadio; essi segnono ora la forma del micronucleo in tal modo, che ai due estremi, dove esso è un poco più rigonfiato, sono molto più larghi che nel mezzo. In questo periodo si può ormai escludere quel fenomeno sopra accennato, della continuità della sostanza micronucleare, agli estremi del fuso, col citoplasma. Tutto ormai farebbe sospettare che il micronucleo dovesse dividersi in due porzioni, in due micronuclei figli; abbiamo avuto il fuso, abbiamo ora un piccolo strozzamento mediano, notevole specialmente quanto agli spazî perinucleari. Ed invece, sicuramente no! Le cose tornano in un certo

modo indietro, e tutto è da rifare. Nessuno stadio è mai possibile rintracciare il quale permetta di concludere che i due estremi del micronucleo a questo punto debbano allontanarsi e dividersi; e ne sono sicurissimo avendo osservato centinaia di individui in questi stadî. Nè d'altra parte è possibile in alcun modo intercalare tra due qualsiasi degli stadî rappresentati dalle figure, tutte quelle complesse modificazioni di forma, con belle strutture cromatiche (cromosomi), delle quali ora andiamo a parlare. Di più, l'osservazione sul vivente dimostra che lo stadio di allungamento è seguito da un raccorciamento, prima della divisione in due parti. È possible ricostruire il processo per cui da questo fuso allungatissimo si torna ad una forma sferica. Abbiamo intanto nella Fig. 69 un micronucleo assai allungato, con un poco di cromatina ad un estremo (l'altro non ora contenuto nella sezione) ed un poco anche nel mezzo. Abbiamo nella Fig. 70 dei micronuclei che sono allungati, ma non a fuso, e, nonostante il loro spessore discretamente grande, non contengon fibre distinguibili. Abbiamo nella Fig. 71 dei corpi con grande spazio perinucleare, senza cromatina, con struttura indefinibile; si osservi che nè questi stadî sono interponibili trai precedenti, nè il macronucleo — della cui descrizione particolare tra breve — presenta più quelle forme di divisione che erano caratteristiche degli stadî precedenti. Dobbiamo dunque concludere che la cromatina sparisce, e che la forma torna ad avvicinarsi alla sferica. Anche qui non possiamo ritenere che le cose procedano esattamente in modo uguale in tutti i micronuclei; per quel che riguarda la sparizione della sostanza cromatica, e la variazione di forma, devono esservi delle differenze cronologiche, in questo senso, che talvolta l'uno dei fenomeni precede di un poco l'altro, tal'altra succede l'opposto. Ora prego il lettore di dare in primo luogo uno sguardo d'insieme alle seguenti figure, fino alla 78. Una forma quasi sferica ed una grande radezza della sostanza visibile del micronucleo, sono le caratteristiche di alcune di queste figure. Dei granuli poco cromatici, ma pur nettamente visibili, sono sparsi in mezzo ad un reticolo assai fine, occupando i punti di incontro delle sue maglie (per lo più). La cosa è specialmente visibile nella Fig. 76. Se si osserva la Fig. 74 che poco differisce dalla 71, e la 75 che pur poco differisce dalla 74, alla quale è uguale per la distribuzione generale delle parti, ma da cui si distacca perchè la sostanza ammassata in un punto nella 74, è sostituita da un gruppo di granuli nella 75 — ci si convincerà che dallo stadio della Fig. 71 si passa a quello della Fig. 76, senza che nella descrizione vi siano delle lacune, o che si

presentino delle difficoltà d'interpretazione. Io poi posso dire che per l'osservazione diretta di moltissime coningazioni ho rintracciato stadî che assomigliano a quelli figurati, senza essere ad essi completamente uguali, e che tutti concorrono a stabilire lo svolgimento del fenomeno nel modo anzidetto. Qnanto alla Fig. 73, essa rappresenta uno stadio simile a qnello della Fig. 71, che ne differisce soltanto perchè la cromatina è in parte rimasta nell'interno della massa micronucleare. Per aggiunger fede a questa descrizione, per qnanto riguarda questa sparizione della colorabilità coi colori caratteristicamente proprî della cromatina nucleare, dirò che stadî i quali fanno pensare alla mancanza di nn rigoroso accordo cronologico tra la variazione di forma — dallo stadio allungato alla forma sferica — e la diminuzione di cromaticità, si trovano in uno stesso preparato, e sia che questo sia molto, sia che sia piuttosto scarsamente colorato coll'ematossilina ferrica. Si trovano, nei dne casi, aspetti come quelli della Fig. 73 e della 74, i quali dunqne dimostrano che questa diminuzione di colorabilità può avvenire più o meno presto, in confronto colla variazione di forma.

Assistiamo ora ad un progressivo assestamento dei granuli *rari nantes* nei micronnclei della Fig. 76, e del reticolo su cui son disposti. Questo assestamento porta finalmente alla formazione di un bel fuso cariocinetico con cromosomi al centro, e nettissima distinzione tra sostanza acromatica e cromatica. Le Fig. 77 e 78 mostrano il passaggio, e la Fig. 79 mostra un bel fuso formato. Non oserei dire che i cromosomi quali appaiono nello stadio del fuso appena formato, Fig. 79, costitniscano nell'insieme nna massa di sostanza minore che non i granuli delle Fig. 76 e 77; non se ne ha l'impressione per nulla nell'esame dei preparati. Invece la differenza di comportamento rispetto all'ematossilina col metodo Heidenhain è nettissima. Si deve dunque concludere, che la colorabilità della sostanza che forma i cromosomi anmenta dallo stadio precedente a questo, per variazoni delle sue proprietà chimiche, non perchè essa si raccolga di più. Quanto allo spazio perinucleare, assistiamo ad un fatto curioso. Spesso, anche negli stadî precedenti, era possibile riconoscere in esso qnalche fibra conginngente il micronucleo al citoplasma; quando poi dallo stadio di raccoglimento — dopo l'allungamento — la sostanza del micronucleo si divide in granuli, essa si sparge anche in quello che prima era spazio così detto perinucleare, dove ormai si vede distintamente estendersi il reticolo. Accade insomma un'invasione di questo spazio, per opera delle strutture nucleari, come è chiaramente visibile nella Fig. 76.

nella quale non esiste nessnna traccia di spazio circostante alle struttnre — reticolo e granuli — del micronucleo. E così nella Fig. 78, nella qnale il fuso è qnasi compiuto. Poi, come si vede nelle Fig. segg., un piccolo spazio si va riformando, il quale però non acquisterà importanza altro che più tardi, quando le strntture nucleari, nello spartirsi, si raccoglieranno di nuovo in uno spazio più ristretto.

Tutto ciò che snccede dal momento del massimo allungamento a quello in cui vi è il fuso cariocinetico, è malagevole a seguirsi nei preparati *in toto*, e perciò a queste modificazioni corrispondono nelle Fig. pochi stadî. Si osservi però la Fig. 12, la quale corrisponde su per giù alla 71 o 73, ed è buona conferma degli aspetti che in esse abbiamo descritti.

Ormai che abbiamo descritto qnesti processi, possiamo distinguere con due nomi diversi il vero fuso cariocinetico, da qnello che appare nelle prime modificazioni del micronncleo; e chiameremo il primo, fnso primario, il secondo, fnso secondario.

Il fuso insomma si forma sempre nell' interno del nucleo, come per lo più nei Protozoi; sappiamo infatti che solo raramente si hanno fusi di origine extrannucleari, come quello descritto da Grassi e Foà (04) nelle Joenie.

La struttnra delle fibre è la usuale, ciò che abbiamo esaminato attentamente ricordando che talora — come caso eccezionale è ben vero — esse si mostrano granulose (*Actinosphaerium*, Hertwig 84).

Il primo apparire del fuso secondario, ci offre come mostrano le Figg. 13 e 79, la caratteristica di un allungamento nella direzione perpendicolare a quella delle fibre. Ma deve essere molto rapida quella modificazione di forma che conduce il fuso ad essere allungato per l' altro verso (Fig. 14 e 80) giacchè è possibile trovare i due micronuclei del microgamete che presentino uno l' allungamento per un verso, l' altro per l' altro. E per contro in tutti gli stadî della divisione, essi vanno molto d' accordo differendo solo di pochissimo l' uno dall' altro. Come anzi tale differenza trai due micronuclei sia stata ntilizzata (a proposito dell' individuo disegnato nella Fig. 13), per alcnne misure d' orientazione, cfr. in segnito.

Anche gli stadî della Fig. 13 e 79 differiscono un poco tra loro, in quanto nella Fig. 13 le fibre sono divergenti, anzichè convergere ai poli del fuso. Una convergenza perfetta manca spesso nei primi stadi, e la Fig. 13 ci ricorda la Fig. 78; si deve dunque considerarla come rappresentante nno stadio precedente a quello della Fig. 79, e questo come di pochissimo precedente quello della Fig. 80.

La mancanza dei centrosomi si palesa in questa riunione tardiva

delle fibre fusoriali in un punto polare; ricordiamo che spesso casi di non convergenza verso dne poli si osservano in analoghe condizioni, come per esempio in *Aulachanta scolymantha* (BORGERT, KARAWAIEW), nella quale la divisione nucleare si compie essendo i cromosomi trasportati verso dne rette parallele, anzichè verso due punti; rette le qnali si incnrvano — dopo la separazione delle due masse di cromosomi — prodncendo così un raccoglimento di essi.

Qnanto al mutamento del rapporto trai diametri del fuso, qnesto ci ricorda qnanto ha osservato SCHEWIAKOFF (1887) nell' *Euglypha*, dove come qui il fnso è dapprima più largo che lnngo, per acquistare secondariamente la forma usuale.

Divenuto ormai il fuso convergente ai due poli, i cromosomi si allontanano dal piano equatoriale, rimanendo in connessione per mezzo dei filamenti riunenti. La Fig. 15 e la 81, di poco seguente come stadio, mostrano la cosa. Come avvenga la divisione dei cromosomi è impossibile determinare, data la loro piccolezza e la loro reciproca vicinanza.

Si passa ora per uno stadio in cui sembra che di nuovo la cromaticità sia un poco diminnita, come mostra la Fig. 82. E finalmente cominciano le due masse così allontanatesi, a separarsi. Qui siamo in un periodo che mal si decifrerebbe colle sole sezioni; daremo prima perciò la descrizione di quello che avviene, in base all' osservazione dei preparati *in toto*, completando poi le osservazioni, per i particolari più minuti, collo studio delle sezioni. I filamenti riunenti (Fig. 16) si mostrano paralleli, assai esattamente, in uno stadio che si può ritenere di pochissimo seguente quello della Fig. 82, nella quale erano ancora più allontanati nel mezzo. Poi invece si avvicinano cominciando la cosa da uno o due punti. E nella Fig. 16 ora citata, si vede come sia il micronucleo del macrogamete ad uno stadio leggermente più avanzato di quelli del microgamete. Procedendo oltre il restringimento del fascio di filamenti, essi vengono a formare una specie di cordone, da cui, in vicinanza delle masse nucleari, partono filamenti; è possibile che laddove si vede un cordone, si tratti dei filamenti stessi semplicemente addossati tra loro. Questo stadio è ben visibile nella Fig. 17, in nna della coppie dei micronuclei del microgamete. Nell' altra coppia il cordone riunente non è rappresentato, perchè, per l' orientazione sotto cui si presentava, non si prestava bene al disegno. Ma esisteva come nella coppia in cui è disegnato. La coppia di micronuclei del macrogamete, è invece ad uno stadio leggermente più avanzato. Esistono due tratti di cordone, ma esso è rotto in un punto. Son

dunque rimasti due nuclei, che hanno una specie di prolungamento; è notevole il parallelismo di questi due prolungamenti. Le Figure di simili stadî, che abbiamo tolte dalle sezioni, offrono l'inconveniente che non mostrano le cose nel loro insieme. Ciò dipende dal fatto che una coppia di nuclei è quasi impossibile a trovarsi su un'unica sezione; ed è altresì molto difficile a rintracciarsi, nelle sezioni in serie, quel cordone riunente, acromatico, così lungo e curvo. Cosicchè, non potendo facilmente acquistare la certezza di non ingannarmi in una ricostruzione di questo genere, ho preferito tralasciarla, considerando che la cosa appare nettamente, molto chiara, nelle Figure tolte dai preparati *in toto*. Quanto ai più minuti particolari, osserviamo nella Fig. 83*a* un micronucleo — non ancora distaccato dal fratello gemello — in cui la massa cromatica è ormai addensata a mezzaluna, dalla quale partono i filamenti riunenti. Una colorazione di fondo non esiste in queste massa, formata di granuli cromatici; essa è rappresentata nelle figure, soltanto perchè sembra che vi sia quando si guarda tenendo fissa la vita micrometrica. La Fig. 83*b* mostra l'aspetto di un nucleo nello stesso stadio, visto però dal di sopra. Nella Fig. 34 vi è una coppia di micronuclei nel microgamete, nella quale le cose passano all'incirca come nella Fig. precedente, ed un'altra in cui si vede che lo stadio è lo stesso, pur non potendosi ben decifrare la struttura, a causa della orientazione sfavorevole. La figura è però un'interessante veduta d'insieme, perchè mostra che anche qui nel macrogamete le cose sono già un poco più avanti; il micronucleo che solo è in tale orientazione da potersi esaminare con frutto, mostra lo stesso prolungamento a cordone, che abbiamo osservato nei preparati *in toto*. È caratteristico il fatto che le fibre son qui poco visibili, ormai, si che interpreto questo stadio, e quello della Fig. 85 come un poco seguenti a quello della Fig. 17; cosicchè nel caso della Fig. 84 la precedenza di stadio per parte del macrogamete è anche più notevole. Quanto alla Fig. 85, essa mostra un'altra particolarità, che io veramente ho disegnato per scrupolo di coscienza, non osando darle nessuna importanza; si tratta di alcuni corpiccinoli bacilliformi, acromatici, che si trovano nel cono dove prima erano i filamenti riunienti. Questi corpi, che, come dicevo, sono acromatici, ossia non si tingono coll'ematossilina nel metodo Heidenhain, li ho riscontrati alcune volte, e potrebbero essere un prodotto delle fibre del fuso secondario, che a questo stadio scompaiono. Un qualche cosa di poco diverso, ma che parlerebbe nello stesso senso — nel senso cioè di una permanenza della sostanza

delle fibre del fuso secondario, nei due nuclei figli — si osserva anche nella Fig. 86 A dove si vedono due corpi riuniti ad u, nella massa del micronucleo, e che per forma e colorabilità ricordano gli altri ricordati. Non voglio però dare valore a queste osservazioni, soltanto le ho riportate, come possibile indicazione di un fenomeno da ricercarsi su un materiale che sia per avventura più favorevole per la cosa in questione. Osservando la Fig. 85 B, si vede anche che i granuli cromatici non sono più a questo stadio tutti intensamente cromatici. E si arriva con questo a quello stadio che è rappresentato nella Fig. 87, dove micronuclei quasi al termine dei fenomeni cariocinetici, mostrano ancora un allungamento da una parte, non più granuli intensamente cromatici; anzi essi hanno ormai un minor numero di granuli nettamente visibili, i quali si trovano in una sostanza di apparenza omogenea, e ribelle all'ematossilina di Heidenhain. È molto difficile trovare stadî nei quali i quattro micronuclei del microgamete ed i due del macrogamete siano di aspetto più omogeneo di quelli rappresentati nell' ultima figura descritta. Io ne ho veduti talora, ma non li ho disegnati sul momento, e dopo non ne ho trovati più. Un periodo di riposo, dalla divisione cariocinetica descritta a quella seguente, non esiste affatto, i micronuclei, dall' avere un aspetto quasi omogeneo, ma con granuli visibili, passano subito alla formazione della nuova mitosi.

L'andamento della prima divisione di maturazione si può dunque così sintetizzare: Si forma nel micronucleo un fuso acromatico (primario), il quale subisce un cospicuo allungamento; al termine di questo, comincia a comparire sostanza cromatica, nelle punte del fuso, e poi per gran parte di esso, che intanto perde la forma tipica a fuso, non contiene più fibre distinte, e si ingrossa agli estremi; lo spazio perinucleare appare a forma di 8. Poi segue un raccorciamento, ed un ritorno alla forma sferica, con granuli sparsi — poco cromatici — su un reticolo acromatico. Questo si assesta a fuso (secondario), mentre i granuli si riuniscono in cromosomi intensamente cromatici. Essi si separano, i filamenti riunenti — molto lunghi — si uniscono in un cordone riunente, che si incurva, fino a formarsi un semicerchio completo; allora il cordone si spezza, i suoi resti si retraggono, le due masse così separate perdono le cromaticità e le caratteristiche strutturali, e formano due nuclei simili agli ordinarî micronuclei. Le fibre del fuso secondario sono dapprincipio divergenti, poi convergono ai poli, privi di centrosomi.

5. 2ª divisione di maturazione.

Su questa saremo assai più brevi che sulla precedente, perchè i fenomeni che in essa si osservano sono dello stesso genere, solo i processi sono alquanto accorciati. Ci possiamo perciò riferire a quanto abbiamo sopra imparato a conoscere, ciò che ci facilita l' intelligenza di quanto accade ora, e ci evita la ripetizione di una lunga — ed inutile — descrizione. Questa seconda divisione procede assai più rapidamente che la prima, e ne segue che nei preparati molto più rari sono gli stadî che non in quella. Ciò non impedisce di ricostruirne il processo, e specialmente di constatare che anche in qnesta esiste lo stadio caratteristico dell' allungamento, come la Fig. 18 mostra chiaramente. Nelle sezioni mal si può trovare individui in questo stadio che si prestino ad esser raffigurati, perchè i numerosi micronuclei, allungati in piani differenti e anche spesso curvi, compaiono soltanto a pezzetti nelle singole sezioni. La struttura di questi corpi non differisce sostanzialmente da quella dei corrispondenti della divisione precedente, solo la cromaticità finisce coll' essere più diffusa, invadendo anche l' interna massa micronucleare. La Fig. 88 mostra la formazione del fuso secondario, dopo lo stadio del raccoglimento, e presenta la caratteristica delle fibre divergenti, come nella divisione precedente, disposizione che si trasforma al solito, poco dopo, come mostrano le Figg. 19, 20 e 88. Uno stadio molto interessante è quello disegnato nella Fig. 21, nella quale i nuclei del macrogamete, già sono ciascuno diviso in due masse cromatiche, i cromosomi son già disposti ai due poli dell' ex-fuso secondario, e connessi coi filamenti riunenti. I 4 micronnclei del microgamete sono invece in stadio più precoce; veramente ho detto i 4, ma avrei dovuto dire due di essi, non perchè gli altri due non lo siano, ma perchè soltanto due sono talmente orientati da potersi ben distinguere la loro struttura; una esatta osservazione della cosa mi ha però convinto che anche i due orientati quasi verticalmente, non son giunti allo stadio in cui sono quelli del macrogamete. Si vede, nei due quasi orizzontali, che i cromosomi si trovano ancora verso il centro del fuso, ma non più connessi a formare nna piastra equatoriale; evidentemente essi son colti proprio nel momento in cui stanno separandosi per avvicinarsi ai poli del fuso; ciò mostra al solito un leggiero anticipo nei processi che si svolgono nel macrogamete. Il fatto di questa discordanza mostra anche quanto siano più rapidi i fenomeni di questa divisione, al confronto della precedente; infatti, p. e. nella Fig. 15 si aveva uno stadio nel quale i

cromosomi sono, sia nelle cariodieresi del microgamete che in quella del macrogamete, agli estremi dela Fig. mitotica, ma non ancora raccolti in una forma a semiluna; invece nella Fig. 21, nel macrogamete già è avvenuto il raccoglimento a mezza luna, e nel microgamete ancora non son del tutto separati i cromosomi.

Compiutasi la separazione dei nuclei figli, questa volta segue uno stadio di riposo ben netto, nel quale la struttura del micronucleo ha quello stesso aspetto quasi omogeneo che nei micronuclei delle Opercularie comuni. Rappresenta un momento di poco precedente a questo la Fig. 90, ove ancora è considerevole lo spazio perinucleare, e la forma dei singoli micronuclei non è del tutto sferica. Le Figg. 22 e 91 corrispondono al minimo grado di struttura interna dei micronuclei.

Vogliamo ora fare una osservazione sopra al curioso fenomeno che si presenta nelle divisioni di maturazione.

Il fatto che in queste divisioni, dopo l'allungamento e dopo che il micronucleo è ingrossato agli estremi e lo spazio perinucleare fortemente ad 8, si torna a rimescolare ogni cosa per cominciare un'altra volta i processi riordinativi e compiere la spartizione in due, ricorda un poco la cariodieresi dell' *Amoeba limax* (VAHLKAMPF), nella quale la sostanza nucleare cromatica si divide in due grandi masse, che, già distanziate, sembrerebbe dovessero distaccarsi e formar due nuovi nuclei. Invece allora cominciano a formarsi i cromosomi, le masse diminuiscono di grandezza, insomma tutto è da rifare, e procede da qui in là su per giù come di solito.

Il nostro caso, e questo dell' *Amoeba limax* ugualmente, ci suggerisce una considerazione. Quando siamo nello stadio ad 8, dopo l'allungamento, nonostante l'apparente simmetria delle due parti, nella lunga figura, dobbiamo ritenere che nell'intima struttura non esista un assestamento simmetrico, rispetto al piano trasverso mediano. Questa intima simmetria si stabilirà soltanto dopo, coll' apparizione dei cromosomi; si che, quello che a noi appare un ritorno indietro, il ritorno alla forma sferica, non dobbiamo considerarlo tale: se il nucleo si dividesse dopo lo stadio dell' allungamento, molto probabilmente le due metà non avrebbero proprietà uguali. Come poi questo intimo assestamento in due parti simmetriche si compia, e perchè nelle divisioni di maturazione richieda processi più complicati, naturalmente non possiamo indovinarlo.

La conclusione riguardante la seconda divisione di maturazione è molto semplice:

Questa seconda divisione di maturazione è simile alla prima, nella successione degli stadî, soltanto si passa più sinteticamente dal fuso primario allungato e cromaticizzato, al fuso secondario. Come tra poco vedremo, è in questa che avviene la riduzione numerica dei cromosomi.

6. Ultima divisione, prima della fusione nucleare.

Ecco adesso che incominciano per la prima volta a manifestarsi delle differenze trai varî discendenti del micronucleo originario. Tutti meno uno nel microgamete, ed altrettanto nel macrogamete, cominciano a differenziare nel loro interno dei corpicciuoli nei quali aumenta la colorabilità; ciò è visibile nella Fig. 92, e nella 99 e segg., nelle quali ormai tutta la sostanza di questi micronuclei è intensamente colorabile coll' ematossilina Heidenhain. L' unico micronucleo di ciascun gamete, che si trasforma diversamente, comincia ad allungarsi e mostrare insieme una struttura granulosa ben distinta (Fig. 93) alla quale struttura succede la differenziazione di fibre acromatiche, senza contemporaneo sviluppo di cromatina (fuso primario; Fig. 94 e 95). Poco dopo appare qualche corpo colorabile, ed in questo mentre i due fusi si orientano in un modo particolare, come è ben visibile nella Fig. 96 e meglio nella 24. — Qualche volta anche qui si sospetta che il processo della comparsa di sostanza cromatica ed il differenziamento delle fibre non sia in tutti i casi cronologicamente ordinato nella stessa maniera. Ma, sorvolando su questa questione di dettaglio, mi preme invece di rilevare il fatto che, sebbene qui si formi un bel fuso primario, differenziatosi nel micronucleo nello stesso modo che il fuso primario della prima divisione ampiamente descritta sopra, si passa direttamente dal fuso primario al secondario, ossia da aspetti paragonabili al primario ed al secondario di quella divisione; un solo fuso si forma in questa che ora siamo intenti a descrivere, i cui aspetti corrispondono, secondo lo stadio, rispettivamente a quelli del primario e secondario dell' altra. Ciò getta luce sul fenomeno della doppia formazione a fuso nelle divisioni di maturazione, e costringe a identificare il fuso primario col secondario, nonostante che un periodo intermedio esista nel quale non esiste traccia di fibre orientate a fuso, e nonostante che non si possa a tutto rigore asserire che ciascuna fibra dell' uno corrisponda ad una dell' altro.

I cromosomi vanno verso i poli (Fig. 97) e vi si raccolgono (Fig. 25); e così si arriva rapidamente alla formazione di due nuclei. La separazione non ha luogo come nella prima divisione di maturazione, caratterizzata dalla formazione dei cordoni rinnenti che si incurvano. Mostra la Fig. 98 che i due nuclei figli già hanno assunto un aspetto qnasi normale, eppnre sono riuniti ancora da una sostanza di forma cilindrica, non strozzata, la cni struttura omogenea deriva da una trasformazione della struttura filamentosa precedente, quando c' erano i filamenti riunenti. Interrotta anche questa tenue connessione, si passa allo stadio della Fig. 26, stadio che rappresenta un momento assai fugace nei fenomeni che vanno svolgendosi. Si hanno qui, in ciascun gamete, due nuclei identici, e rispettivamente assai vicini.

La uguaglianza perfetta dei nnclei dell'nltima divisione prima della fnsione, va d'accordo con qnanto in generale si descrive sopra al nucleo stazionario e migrante degli Infnsorî, ma non con quanto ha osservato PRANDTL nel *Didinium nasutum;* la differenza trai dne nnclei, in qnel caso, non richiede però che la cosa sia generale, nè significa che uno dei dne sia maschile e l'altro femminile, secondo la nomenclatura del MAUPAS. Qnesta differenziazione, non è omologa a quella che si osserva altrove, nei Vorticellidi p. e., tra micro e macrogamete. Il concetto del MAUPAS, che in questi Infusorî sia maschile il nncleo migrante del microgamete, che si unisce con quello stazionario del macrogamete — concetto sorto evidentemente dal desiderio di fondere in nna le due differenziazioni — non regge molto alla critica, giacchè, come abbiamo veduto nella descrizione dei minuti processi della coningazione, i dne nuclei destinati a fondersi, si portano tutti e due accanto alla membrana che separa i dne gameti, poi qnesta sparisce ed essi si fondono; essi sono dunque nguali anche nell'atteggiamento; invece gli altri 2 si allontanano; se volessimo ad ogni costo fare un raffronto cogli altri Infusorî, troveremmo più giusto di dire che sono dne nuclei migranti, visto che gli altri dne rimangono lontani dal punto di unione dei gameti, come fanno gli stazionari. La differenziazione osservata dal PRANDTL, è una sessualità *sui generis.* Le differenze che spesso si osservano trai dne gameti in ogni specie di Infusorî, condurrà forse a riconoscere nn differenziamento sessuale trai gameti, in qualche specie che presenti la doppia reciproca fecondazione, togliendo con ciò via ogni dubbio nella questione.

E ciò potrebbe avvenire, anche se si trattasse di un differenziamento sessuale constatabile soltanto fisiologicamente, secondo i concetti espressi a proposito della divisione sessuale.

A scanso di equivoci, ricordiamo la disuguaglienza nucleare nei gameti di *Myxobolus pfeifferi* (Mercier), la quale ha un altro significato da quella del *Didinium;* si tratta questa volta di due nuclei appartenenti a due gameti differenziati anche *in toto;* abbiamo insomma uno strano dettaglio della differenziazione sessuale generalmente diffusa.

Facendo il solito riassunto, possiamo dire che l' ultima divisione è dunque essenzialmente simile alle ordinarie divisioni del micronucleo. Uno stadio di accrescimento che la caratterizzi, non è riconoscibile; tutt' al più si può dire che i nuclei sono un poco più grandi, alla formazione del fuso primario, e questo è d' accordo colla grandezza maggiore anche negli stadî successivi. Se — a torto — si volesse sostenere l' esistenza di uno stadio di accrescimento, prima del differenziamento del fuso, che distingua questa divisione dalle ordinarie, — non si avrebbe però mai nulla di paragonabile all' accrescimento (allungamento) subito dai micronuclei delle divisioni precedenti, perchè quello avveniva dopo differenziato il fuso primario; qui invece si passa direttamente dal fuso primario al fuso secondario, come nelle comuni divisioni.

7. Avvicinamento e fusione dei nuclei.

Terminata l' ultima divisione, in ciascun gamete i due nuclei, che hanno uguale aspetto, si allontanano, e si giunge così ad uno stadio in cui essi occupano posizioni esattamente uguali a quelle della Fig. 27, pur non essendo internamente trasformati, ed avendo ancora forma sferica. Non è anzi difficile trovare individui in questo stadio, che ho tralasciato di disegnare solo perchè facilmente intelligibile, nè molto differente dal precedente, e dal seguente raffigurato nella Fig. 27, nel quale si avverte una variazione di forma nei due micronuclei (respettivamente appartenenti al macro- e microgamete) che si trovano in vicinanza. Allora succede anche talvolta, ma non sempre, che i due micronuclei lontani od uno di essi, sia pure schiacciato; se ciò avviene, come è rappresentato in piccolo grado nel microgamete della Fig. 100, ed un poco di più in quello della Fig. 99 e 27, l' orientamento dell' asse più lungo è costante, cioè esso si trova in direzione perpendicolare alla congiungente i due nuclei dello stesso gamete. L' aspetto dei due nuclei che si sono accostati è naturalmente meglio riconoscibile nelle sezioni. Richiamo l' atten-

zione sulle Fig. 99 e 100. Nella prima di queste vi è una grande vicinanza ma una parete divisoria esiste ancora trai due nuclei; qualche fibra si trova nello spazio perinucleare, più distinta che in altri stadî. Nella Fig. 100 è sparita nel punto di separazione trai due nuclei, la membrana del microgamete, si che siamo proprio al momento precedente alle nozze.

La riunione dei nuclei si compie rapidamente, si che è difficilissimo cogliere simili stadî, specialmente nelle sezioni; e la Fig. 28, da un preparato *in toto*, mostra che al momento dell' unione dei due nuclei, qualche radiazione è visibile, tutto intorno al nucleo di coniugazione. Questo acquista poi l' aspetto di un micronucleo cosi detto in riposo; la Fig. 29 ne mostra un esempio, nel quale qualche parte interna è un poco più chiara; non so bene quale valore si possa dare a tale particolarità, in ogni caso avverto che si dà il caso che essa non sia riconoscibile.

Forse si tratta, nel caso della figura, dei primissimi cambiamenti per la divisione successiva.

Più per scrupolo di coscienza che per altro, ricordo una strana idea di Hoyer (99) secondo la quale nei Ciliati la coniugazione avverrebbe senza la fusione del nucleo; consisterebbe in uno scambio dei nuclei migranti, mentre gli stazionarî anderebbero „zugrunde". Ora, non solo la effettiva riunione dei nuclei è stata vista in molti casi, prima e dopo di lui, ma tutta la serie dei fenomeni di maturazione resterebbe poco comprensibile, senza la copulazione dei nuclei, e specialmente non si capirebbe come mai nei Vorticellidi a questi fenomeni vada soggetto anche il micronucleo del macrogamete, il quale seguendo l' A. dovrebbe morire senza traccia; inutile dunque portare in appoggio della sua tesi gli esperimenti dei fratelli Hertwig, Boveri ecc., „vornehmlich aber die neuesten Versuche von Delage 98 an Seeigeleiern, wodurch bewiesen wird, daß kernlose Eifragmente durch das Eindringen des Spermas mit Erfolg befruchtet werden können und entwicklungsfähig sind (pag. 129)"; di ciò *non est hic locus*. Nè certo le incomplete osservazioni di Hoyer acquistano maggior fede per i pregi estetici — veramente considerevoli — delle sue figure.

Le radiazioni osservate per la prima volta da Prandtl negli Infusorî (*Didinium nasutum*), compaiono nell' *Opercularia coarctata* in uno stadio assai più fuggevole. Vediamo in certo modo una funzione centrosomica esercitata dal nucleo *in toto*, ciò che certamente è da porsi nella categoria degli argomenti per l' origine sua intranucleare, anzichè citoplasmica.

La mancanza delle radiazioni attorno al punto dove convergono le fibre del fuso, non è cosa nnova; anch'essa è interessante in quanto tende a mostrare l'influenza del centrosoma nel fenomeno delle radiazioni; infatti esse si mostrano dove esiste un centrosoma; mancano, dove il centrosoma manca, non esclusi quei casi in cui sono assenti anche le fibre fuso (Blochmann 94, Keuten 95 — *Euglena*) nonostante la presenza di un organo direttore della mitosi paragonato si ad un centrosoma, ma veramente molto diverso da esso nelle sue manifestazioni.

La fusione si compie dunqne tra due nnclei identici, ed in uno stato di completa omogeneità apparente, forma quasi sferica, un poco compressa nella direzione della linea d'unione. Poche radiazioni, momentanee, accompagnano l'atto della fusione — ed a questo segue un impiccolimento del nucleo di fecondazione.

8. Ulteriori divisioni e modificazioni, fino al ritorno alle condizioni normali.

Il nucleo di coniugazione tosto entra in nnova attività. Differenziato il fuso, compaiono i cromosomi, ed il nucleo si divide rapidamente, come è rappresentato nelle Fig. 30, 31, producendosi due nnclei del solito aspetto omogeneo (Fig. 32 e 101). Come si vede dalle figure, essi sono notevolmente più grandi dei soliti micronuclei, e ciò non perchè si siano fusi due in uno colla coniugazione; infatti il primo nncleo, dopo la coniugazione, aveva una grandezza su per giù come i micronuclei delle Opercularie normali. La mancanza assoluta di uno spazio perinucleare allo stadio a cui siamo arrivati, è caratteristica (Fig. 101—102). Differenziandosi un fuso in ciascuno dei due nuclei (Fig. 102), si ha una nuova cariodieresi (Fig. 33 e 103), che conduce àlla formazione di 4 nnclei. La Fig. 104 mostra le due masse nucleari di una di queste cariodieresi, già quasi omogeuee di struttura, non però ancora di forma sferica; i filamenti riunenti sono ancora in parte distinti. Qualche fibra si distingue pure negli spazî perinucleari. Siamo dunque allo stadio a 4 nuclei (Fig. 34). Trai numerosissimi individui che si possono osservare con 4 nuclei, ve ne sono di quelli, come nel caso della figura citata, nei quali tutti e 4 i nuclei appaiono identici di grandezza, forma, struttnra; questo fatto è dimostrato sia dai preparati *in toto*, sia dalle sezioni, e con i varî metodi di colorazione adoprati. Però il destino dei 4 nuclei è diverso, giacchè siamo già arrivati al momento

in cui uno restando tra essi definitamente micronucleo, gli altri cresceranno invece, trasformandosi in macronuclei. Tra tutti i processi che si svolgono durante la coniugazione, è certamente nella nostra specie questa trasformazione quello che presenta più varietà nel modo di svolgersi. Perciò ho disegnato parecchi di questi stadî, i quali non possono rappresentare stadî successivi di un processo uniforme; non sarà però difficile rintracciare in che cosa consistano le differenze individuali. Un accrescimento in grandezza ed un apparire di granuli nell' interno, è il primo fenomeno che si osserva. La Fig. 35 e le Fig. 105—107 lo mostrano. Questi granuli si raccolgono però talora, come nel caso della Fig. 106, lasciando un piccolo spazio tra la membranella micronucleare e la loro massa; o la cosa è più accentuata come nella Fig. 108 o, come nella Fig. 109, i granuli sono sparsi in una grande massa incolora, dando ai nuclei un aspetto che ha una superficiale somiglianza con uno stadio della prima divisione di maturazione. Non è però questo un fenomeno comune; in molti preparati non si trovano tracce di simili stadî. In altri casi i granuli, pur essendo diffusi in tutta la massa del nucleo, sono più accumulati nel mezzo (Fig. 110 e 36). Soprattutto però ci interessa la comparsa di sostanza cromatica; essa avviene per la massima parte alla superficie esterna del nucleo (Fig. 36, 111—114), sia che essa compaia in forma di granulini sparsi, sia che si formi in uno o pochi punti in forma di uno o più granuli addossati. Si trovano casi come quelli delle Fig. 115—116, nei quali poca sostanza cromatica esiste, ma centrale; essi sono però relativamente rari, devono quindi rappresentara una deviazione dal tipo più comune del processo. Anche un differenziamento in una grande massa di corpi cromatici (Fig. 117) è fenomeno raro. È invece comune assai che un grosso corpo interno sia presente contemporaneamente ad una serie di più piccoli periferici (Fig. 37) e che quelli più grossi si allunghino, probabilmente per dividersi mentre si allungano i nuclei stessi; si passa così, per mezzo dello stadio Fig. 38 a quello della Fig. 39.

Se in una piccola cultura sono avvenute coniugazioni e non si dà ad essa alimento, dopo varî giorni si possono trovare ancora moltissime Opercularie con tre macronuclei poco allungati ed un micronucleo; la struttura dei macronuclei è in questo caso assai simile a quella dell' unico macronucleo normale, ossia si sono differenziati nell' interno corpi grandi e piccoli, più e meno cromatici. Occorre alimento perchè si producano quelle divisioni dalle quali resulta la spartizione dei macronuclei e la ricostituzione degli

individui normali. Abbiamo nella Fig. 42 un caso di divisione già compiuta, in condizioni di scarso nutrimento, che avevan lasciato tempo ai macronuclei di acquistare una struttura pressochè normale. Invece nella Fig. 41 ove si vede il micronucleo che ha già differenziato il fuso, ma non la sostanza cromatica, gli altri tre nuclei sono poco differenziati, specialmente dal punto di vista della cromaticità; un poco più avanti nelle loro trasformazioni si trovano quelli della Fig. 118. Si trattava di casi in cui una certa quantità di alimento fu trovata dagli individui in questione, e permise la loro divisione prima che i macronuclei fossero ben differenziati nella loro struttura. Come ultima figura del processo di coniugazione, si guardi la Fig. 119 nella quale la presenza di resti del vecchio macronucleo indica non esser l' individuo ancora molto lontano dalla coniugazione avvenuta; il macronucleo è ormai normale, non però molto ricco di granuli intensamente colorabili.

La spartizione dei macronuclei avviene, come abbiamo detto, quando i nuclei son diventati 4; con una prima divisione si forma una Opercularia che ha due macronuclei a lato di una che ne ha uno solo (Fig. 42), e con una seconda divisione di quella con due macronuclei, si formano altre due Opercularie con un solo macronucleo. Solo eccezionalmente accade che la divisione dei nuclei indifferenziati — dopo la coniugazione — proceda oltre il numero di 4, fino ad 8, come in altri Vorticellidi; si veda p. e. la Fig. 40; si tratta però di casi molto rari. Data questa rarità estrema, non son riuscito a cogliere questi individui nell' atto di dividersi per spartire i loro numerosi nuclei, ciò che del resto ben si capisce come possa avvenire, nè presenta uno speciale interesse; evidentemente occorrerà una divisione di più a ristabilire le normali condizioni.

Questa descrizione relativa alla formazione del macronucleo nuovo è abbastanza basata su un numero cospicuo di stadî, perchè si possa escludere un' idea proposta da alcuni, in base a ricerche incomplete; così anche recentemente il Fauré-Fremiet (04) studiando la coniugazione di qualche Vorticellide, suppone che i pezzi del vecchio macronucleo in parte si distruggano, in parte si riuniscano a formare un nuovo macronucleo; ma l' A. non ha osservato i fenomeni che avvengono nel micronucleo e nei suoi derivati, chè altrimenti avrebbe di certo constatato anche nelle specie da lui considerate, la stessa formazione del nuovo macronucleo, da divisioni del micronucleo, e in maniera completamente indipendente dai pezzi del vecchio. Questi pezzi probabilmente saranno utilizzati come materiale alimentare, ma che essi passino anche solo parzialmente a formar

parte del nuovo nucleo, non esiste nessuno stadio che possa farlo supporre; i rapporti di vicinanza tra il macronucleo nuovo che sta trasformandosi ed i pezzi in questione, non hanno evidentemente nessun significato; chè se uno si volesse ad essi attribuire, allora saremmo forzati a concludere che anche i Batterî mangiati dall' Opercularia hanno il compito di trasformarsi in macronucleo, perchè essi, nei vacuoli alimentari, si trovano ad avere lo stesso rapporto di vicinanza con i nuovi nuclei — come mostrano le Fig. 111 e 114.

A partire dunque dallo stadio in cui si trova un solo nucleo — dopo la fusione dei due pronuclei — si hanno due divisioni, od eccezionalmente tre. I quattro nuclei derivati sono identici, però uno solo conserva grandezza e struttura, gli altri divengono più grandi, differenziando corpi cromatici nell' interno, la cui formazione ho seguìto gradualmente, escludendo l'utilizzamento della cromatina dei vecchi macronuclei come tale. Si formano così di regola 3 macronuclei, e due divisioni dell'Opercularia intera ristabiliscono le condizioni normali.

9. Il numero e la riduzione dei cromosomi.

Quanto al numero dei cromosomi ed ai fenomeni di riduzione, ho incontrato serie difficoltà nella loro piccolezza e nel fatto che essi si trovano molto ammassati; specialmente nella seconda divisione di maturazione, in cui i nuclei sono più piccoli che nelle altre, riesce incerta la loro numerazione. Ho potuto contarli bene nell' ultima divisione, dove sono 8; nella prima divisione di maturazione ho acquistato la certezza che fossero più numerosi di 12, e spesso ne ho potuti contare 16; è dunque questo il numero normale; una riduzione si palesa perciò evidente, ed essa deve avvenire nella seconda divisione di maturazione, dove si posson male contare i cromosomi nello stadio della piastra equatoriale, ma certamente si aggirano trai 12 e i 16; mentre d' altra parte è assai evidente che essi sono in numero considerevolmente minore in ciascun gruppo che si porta verso i poli del fuso, negli stadî successivi. Nell' ultima divisione si può riconoscere che sono 8, tanto nella piastra equatoriale, quanto poi, in ciascun gruppo che si porta verso un polo del fuso. Finalmente, nelle divisioni del nucleo di fecondazione, il loro numero è — ben chiaramente — tornato a quello normale. Si verifica quindi qua una riduzione numerica, direttamente osservata, come nel *Didinium nasutum* (PRANDTL) unico Infusorio in cui la riduzione sia fin qui

stata dimostrata, uno quindi dei pochi Protozoi in cui è conosciuta — cfr. per questo la breve enumerazione in proposito fatta da Bott (06) mentre descrive la riduzione nella *Pelomyxa palustris*, e da Schaudinn (05). Alcuni autori, come Doflein nella *Noctiluca*, hanno invano cercato i fenomeni di riduzione, ciò che evidentemente non dimostra che essi manchino, data la difficoltà della ricerca nei Protozoi. Certo anche nel nostro caso siamo ben lungi da quella chiarezza di immagini che si osserva in altri Protozoi, e che ha permesso p. e. a Schaudinn di contare i cromosomi in varie specie ed in varie fasi di Tripanosomi (04). I fenomeni di riduzione sono del resto poco noti nei Protozoi, e Schaudinn (05) dice di conoscere solo i casi dei Tripanosomi (Prowazeck 04 e 05 ed egli stesso 04) e quello del *Didinium nasutum*, sopra citato. La riduzione numerica in *Actinosphaerium* (R. Hertwig 99) è molto probabile, ma il gran numero dei cromosomi impedisce di contarli esattamente.

In *Opercularia coarctata* dunque abbiamo come numero normale 16 cromosomi, che si riducono ad 8 colla seconda divisione di maturazione.

10. Modificazioni dei vecchi macronuclei.

Abbiamo seguito nelle loro trasformazioni i micronuclei, fino a formare i nuovi macronuclei. Dobbiamo ora accennare a quello che succede dei macronuclei dei gameti, destinati a distruggersi, secondo quanto generalmente si ammette. Si comincia ad osservare un mutamento di forma, quando i micronuclei sono già due nel microgamete (Fig. 54), ed i corpi interni cromatici si allungano come se dovesse incominciare una divisione (Fig. 6 e 7). A ciò segue uno spezzettamento in più parti, come mostra la Fig. 8. Si può però sorprendere uno stadio in cui i corpi cromatici sono di nuovo sferici e piccoli, Fig. 56—57. Forse le cose non passano sempre in modo esattamente uguale, forse si alternano momenti di allungamento e di raccoglimento in gocce. Al principio del fuso primario della prima divisione di maturazione (Fig. 58—60) la forma delle gocce cromatiche è molto varia, come anche quella dei pezzi. Soprattutto ci sembra interessante il fatto che in questo progressivo spezzettamento lo stadio dell' allungamento micronucleare ha un corrispondente nell' allungamento cospicuo dei pezzi del macronucleo, specialmente nel macrogamete, Fig. 61—62, allungamento che avviene in una direzione parallela a quella del micronucleo. Gli stadi ulteriori della fase d' allungamento portano nel macronucleo alla formazione definitiva

dei pezzi e ciò si può bene vedere nella Fig. 67, specialmente osservando quel corpo a forma di 8, ove si è sorpreso un granulo cromatico nel momento di dividersi. La cromaticatà aumenta qui insieme che nel micronucleo, come mostrano le figure successive. I pezzi definitivamente isolati hanno un aspetto tipico, determinato dalla presenza di un grosso granulo cromatico centrale, ed alcuni piccoli periferici; oppure tutto il pezzo è cosparso di granuli cromatici di media grandezza (Fig. 70). Anche in stadî successivi, ma di poco, come mostra la Fig. 72, possono questi pezzi non essere tutti definitivamente formati. Più avanti i granuli periferici si rendono sempre meno visibili, ma spesso si osservano dei raggi partenti dal granulo centrale (Fig. 73). E con poche differenze, in cui i caratteri individuali possono anche aver parte, arriviamo allo stadio dell' ultima divisione, Fig. 94, nel quale la cromaticità dei corpi in questione è molto aumentata, e raramente si distingue un granulo centrale più grosso da altri periferici. Questi cumuli di granuli (Fig. 96) si riconoscono però sempre dai micronuclei non utilizzati, i quali hanno pure assunto una grande cromaticità, ma più diffusa e regolare. Dal momento della piastra equatoriale, la cromaticità dei resti del macronucleo è di nuovo diminuita, ed alcuni hanno l'aspetto che avevano prima, con un grosso granulo centrale, ma più spesso ci sono pochi granuli, periferici, e la massa è poco cromatica. La riorganizzazione allo stato di prima si effettua un poco più tardi, quando già i due ultimi micronuclei si sono prodotti ed avvicinati; e nemmeno avviene in tutti i pezzi (Fig. 100). Negli stadî successivi, dopo la copulazione nucleare, quando il nucleo di fecondazione si divide, i resti del vecchio macronucleo hanno i caratteri che avevano da principio tranne alcuni che sono proprio ridotti in granuli sciolti (Fig. 102). Arriviamo anzi assai avanti in queste condizioni, avvertendo che spesso invece dei granuli periferici c'è un contorno un poco più cromatico, e che spesso i raggi sono accentuati. Un aspetto più compatto ed omogeneo caratterizza i corpi che rimangono quando già l'Opercularia si divide od è divisa.

Senza poter minimamente afferrare quel che succeda in quei laboratorî chimici di cui noi vediamo le muraglie, possiamo però affermare che questi corpi, mentre risentono delle condizioni del micronucleo nella fase d'allungamento della prima divisione di maturazione, subiscono anche dopo modificazioni, che devono esprimere una partecipazione al metabolismo generale della cellula, essendo connesse con determinati stadî.

Ciò non ci fa meraviglia, giacchè sappiamo che i corpi cromatici

del macronucleo sono oltremodo variabili anche indipendentemente dalla coningazione; già GREENWOOD ne ha detto qnalche cosa in rapporto collo stato di alimentazione; il significato preciso di tali modificazioni, però sfugge fino ad oggi, come ho indicato in un recente articolo (07, 1).

Per quanto si riferisce allo *spezzettamento e trasformazioni dei vecchi macronuclei*, durante la coniugazione, vogliamo insistere specialmente sn tre punti: che le loro *modificazioni continue di aspetto e cromaticità* nei varî periodi della coniugazione, indicano una parte che essi prendano o subiscano in essa; che *il modo con cni cominciano a trasformarsi, ricorda ciò che avviene nella divisione*, e che *durante la fase di allungamento, nella prima divisione di maturazione, i pezzi del macronucleo vecchio, specialmente nel macrogamete, assai numerosi ma pur sempre assai grandi, snbiscono allnngamenti paralleli alla direzione del micronncleo, mentre che proseguono nello spezzettamento.*

11. Le coniugazioni osservate sul vivo.

Il tempo impiegato dai varî processi sopra descritti, lo ho potuto determinare colle osservazioni sul vivo. La temperatura era di circa 20°. Ho spesso osservato Opercularie isolate dopo la divisione sessuale, in cui la snccessiva divisione dell' individuo maschile tardava ad avvenire anche qnasi nn' ora; è possibile che qnesto tempo sia anche maggiore. La divisione nna volta incominciata si compie in meno di un quarto d'ora, poi i microgameti impiegano qualche tempo a completarsi, si che il primo si stacca dopo nn tempo che può arrivare alle dne ore. Più di mezz' ora pnò rimanere l' altro ancora attaccato. Dal momento in cui comincia la coningazione, passa più di un' ora prima che cominci la divisione del micronncleo maschile. Incomincia la prima divisione di maturazione dopo nn' altra ora circa, ma questa è di durata più lunga delle altre, si che impiega di per sè più di nn' ora per completarsi; solo dopo due ore e mezzo a tre dal suo principio, comincia la terza divisione, e di qui in poi le cose vanno assai presto, si che dopo tre ore e mezzo è tutto finito, cioè l' Opercnlaria ha tre macronuclei ed un micronucleo. In qnesto stato pnò segnitare a stare anche più giorni, giacchè mentre fin qui le cose procedevano come svolgimento di nn fenomeno esclnsivamente nucleare, ed interno, senza bisogno

di alimento, ora l' Opercularia deve diversi *in toto*; l' alimentazione ha perciò grande influenza; accade, nelle culture ove è un' epidemia di coniugazioni, di osservare un nnmero qnalche volta sterminato di Opercularie in questo stato; e si capisce: le coningazioni si sono svolte per e nel digiuno, ed in tali condizioni tardano le successive divisioni ad avvenire; invece negli esperimenti, dando a mangiare agli individui che sono arrivati a questo pnnto, in poche ore si dividono per due volte e ridivengono normali. Come si vede l' intero processo (escluse le divisioni dell' Opercnlaria, necessarie per la spartizione dei macronuclei) dnra 9—10 ore.

Più che per la determinazione di queste misure di tempo, le osservazioni sul vivo hanno interesse per la conoscenza di alcnni particolari fenomeni. Si segue p. e. assai bene — con forti obbiettivi ad immersione — la penetrazione del microgamete nel macrogamete; nua volta che il primo ha aderito al secondo, si comincia a formare un' ernia, nell' interno del macrogamete, ed il micronncleo maschile che nel microgamete libero aveva un' altra posizione, è quello che ora sta avanti a tntto, ed avanza man mano che l' ernia avanza. Sebbene non si possa affermare che ad esso si debba la formazione dell' ernia, pure ciò sembra verosimile, dato questo sno comportamento (Figg. 43—45).

Un' altra questione assai importante è quella delle coniugazioni mnltiple, per ciò che riguarda la contemporaneità dei processi che si svolgono. Abbiamo visto che qni, come in generale, la divisione degli elementi maschili e feminili è contemporanea, tranne nel caso della prima divisione nel microgamete, la qnale non ha corrispondente nel macrogamete. Quando avviene la coniugazione multipla, i processi sono contemporanei tra i due microgameti ed il macrogamete; anzi una volta ho osservato tre microgameti in coniugazione collo stesso macrogamete, e tutti e tre nello stesso identico stadio. Le osservazioni sul vivo spiegano come avviene questo fenomeno, ossia non le cause, ma il modo del suo svolgimento. Una volta, isolando un' *Opercularia* coi suoi dne microgameti attaccati e ponendola in nna piccola goccia, accadde che il primo entrò in coniugazione colla zia, mentre il secondo era ancora attaccato; osservai dapprima il proseguire dell' ernia nell' interno del macrogamete, poi il distacco dell' altro microgamete, avvenuto dopo mezz' ora dal principio della coningazione; dopo alcuni altri minnti, anche questo si attaccò alla zia, ed incominciò

i soliti processi, indipendentemente dal fratello. Cominciava appena l' ernia dovuta al secondo microgamete, che già il primo era un poco allungato a fuso. Dopo altri 40', le dne ernie erano diversamente grandi, ma i micronuclei dei dne microgameti erano ormai allo stesso stadio, ngualmente allungati, e così seguitarono sempre, come può servire a darne un' idea la Fig. 46. Dal principio della coniugazione del primo microgamete al principio della divisione del suo micronucleo passò un poco più di un' ora e un quarto, un tempo un poco lungo, ma non tale da potersi dire con certezza che esso abbia rallentato il suo corso; l' altro però lo accelerò di certo, arrivando alla stessa fase in almeno quaranta minuti più presto.

Mostrano queste osservazioni, che la contemporaneità dei fenomeni nelle cariodieresi della coniugazione, non è dovuta a che i loro svolgimenti richiedano un tempo uguale; *esiste nn diretto collegamento trai processi dei gameti, per il qnale gli stadî devono essere contemporanei, anche se, cominciati in momenti differenti, avessero la natnrale tendenza a svolgersi successivamente.* Le modalità di questo collegamento, le intime sue cause, natnralmente ci sfuggono.

Non sappiamo, nella lotta fraterna dei due microgameti, se l' influenza regolatrice sia da attribuirsi specialmente al macrogamete, che sembra per il momento qnasi inoperoso; forse si stabiliscono correnti d' azioni trai due microgameti stessi, attraverso al corpo del macrogamete.

12. L' accordo degli stadî nei gameti. Precedenza del macrogamete.

Una conclusione che non vogliamo tralasciare di mettere in evidenza, si riferisce alla parte che prendono i due gameti nell' accordo degli stadî di divisione. Abbiamo visto, a proposito delle osservazioni fatte sopra Operenlarie viventi, che gli stadî in cui si trovano i nuclei dei due gameti si mettono d' accordo anche se uno dei due è originariamente più indietro dell' altro; si che se ne è dedotta l' esistenza di qualche influenza trai gameti. Ci sembra opportuno mettere in raffronto questo fatto con una constatazione la quale abbiamo fatto molte volte, nelle minute descrizioni dei processi cui i gameti vanno incontro. Abbiamo notato che spesso *i micronuclei del macrogamete sono di qualche cosa più avanti nelle loro trasformazioni, di quel che non siano quelli del microgamete.* La constatazione si è sempre

fatta riguardo a stadi poco facili a trovarsi nei preparati; e se ne capisce facilmente la ragione; uno stadio è tanto più facile a trovarsi, quanto più esso dura immutato o poco mutato a lungo; ed allora, se anche esiste una differenza di stadio tra i due gameti, essa deve rimanere inavvertita; invece qnando si hanno rapide modificazioni, per quanto un disaccordo sia piccolo, esso è riconoscibile. A parte questa differenza di indole generale, raramente abbiamo trovato nuclei dello stesso gamete che fossero in stadio un poco diverso. Dobbiamo dunque concludere che al macrogamete probabilmente spetta una parte maggiore, nel determinare la durata dei singoli processi, influendo sul microgamete in modo da accordarlo coi propri mutamenti. Ciò è tanto più strano, in quanto nel microgamete vi è una divisione di più, che si compie prima che nel macrogamete sia visibile qualche modificazione. La mia opinione personale è che le influenze siano reciproche trai due gameti; una notevole differenza trai due quanto alla parte che prendono agli intimi processi nucleari — non è mai constatabile, in nessuno dei regni della natura; forse la differenza di massa trai due gameti è la causa del fatto che il più piccolo sia in certo modo dipendente nelle sue modificazioni, dal più grande.

Lasciando però da parte ogni tentativo di spiegazione che è qui incerta, ci contentiamo di insistere sul fatto che, mentre il microgamete dà principio alla coniugazione avvicinandosi al macrogamete ed avendo nel suo micronucleo una divisione che il macrogamete non ha — appena questa divisione è avvenuta, e per tutti i fenomeni precedenti la fusione dei pronuclei, il macrogamete si trova sempre in stadio un poco più avanzato del microgamete.

13. Variazioni della cromaticità nelle divisioni di maturazione.

La cromaticità delle strutture micronucleari presenta variazioni continue, e tali che due volte, nelle divisioni di maturazione, il nucleo diviene intensamente cromatico — nella fase dell'allungamento ed in quella del differenziamento dei cromosomi — con un periodo intermedio di scarsissima cromaticità. Questo fatto, se ben si considerino le descrizioni singole dei fenomeni osservati, mette in rilievo quanto si sia schematici tutte le volte che si parla

della cromatina come di un gruppo di pedine nere in mezzo a delle pedine bianche, pedine nere che farebbero soltanto evoluzioni di forma e di posizione, divenendo molto scure quando impiccoliscono, più chiare se ingrandiscono, rigonfiandosi. Tale tendenza è forse assai diffusa nella odierna citologia, e mi sembra che sia basata sopra a schemi non corrispondenti alla realtà.

Nell' *Opercularia*, abbiamo seguito le variazioni della colorabilità di masse considerevoli, abbiamo p. e. notato che i micronuclei nella fase di allungamento prima della secondo divisione di maturazione divengono completamente cromatici. Non possiamo per nulla sospettare che ciò dipenda da un intenso processo di assimilazione di piccolissime parti cromatiche preesistenti (invisibili), assimilazione alla quale poi segua una rapida distruzione della cromatina formatasi sì che restino corpicciuoli cromatici invisibili, nella fase del raccoglimento. Anzi, possiamo dire che alcuni granuli di cromatici divengono acromatici, come è resultato probabile dalle descrizioni ai queste trasformazioni. Questi concetti sarebbe troppo lungo applicarli dappertutto dove è possibile; ma voglio citare l' esempio di quella curiosa divisione dell' *Amoeba limax* (Vahlkampf) dalla cui descrizione il lettore rimane coll' impressione che, dopo la fase della separazione delle grandi masse di sostanza cromatica, la formazione dei cromosomi debba necessariamente dipendere dalla cromatina in quelle masse accumulata; una specie di fato invincibile sembra impendere su questo fenomeno, nonostante che l' A. non sia risoluto nel fare tale ipotesi. Egli è — vorrei dire con una frase un po' rude, ma che mi sembra espressiva — che la cromatina non è una sostanza, bensì una proprietà. E con questo mi sembra di rispondere anche alle critiche che ha rivolte A. Fischer alla tecnica microscopica delle colorazioni. Mentre sono d' accordo con lui nell' ammettere che le sostanze le quali ci appaiono ugualmente colorate possono essere molto più differenti di quelle che in altri casi possano apparirci diversamente colorabili — ed apprezzo molto le sue ricerche a questo proposito — mi sembra che le sue critiche non vadano per nulla rivolte alla tecnica, ma a quei tecnici che non valutano giustamente le prove delle cose osservate. Se discussi serenamente, i fatti per lo più non conducono a schematismi eccessivi — come ci è accaduto testè per la cromatina dell' *Opercularia*.

14. Omologie delle divisioni conducenti alla formazione dei pronuclei.

L'avere osservato che la prima divisione del micronucleo, nel microgamete dell' *Opercularia* — quella che non ha corrispondente nel macrogamete — nonchè l'ultima divisione prima della fusione dei pronuclei, sono tra loro sostanzialmente uguali, ed uguali all' usuale processo di cariodieresi in questa specie, mentre le due divisioni intermedie sono sostanzialmente differenti, mette sempre più in luce la loro speciale caratteristica, mentre alle altre si deveno paragonare divisioni usuali nagli altri organismi. Quanto alla prima divisione nel microgamete, non sapremmo far niente di meglio che accostarci alla ben nota idea del Maupas, il quale la considera come un avviamento a quella condizione di due micronuclei, la quale è permanente in molti Ciliati; laddove, come negli Euplotidi e nei Vorticellidi, un micronucleo è andato colla evoluzione sparendo, compare però di nuovo, per un momento, durante la coniugazione. Siccome si tratta di un fenomeno proprio di un gruppo ristretto di Infusori, e trai più differenziati, non si può audare a rintracciare omologie coi Metazoi, nelle divisioni degli spermatogonî ed ovogoni, precedenti la maturazione delle cellule germinali; a queste, secondo R. Hertwig (05) — e mi sembra giustamente — si paragonana invece le divisioni che frequenti si osservano negli Infusorî, prima che cominci la epidemia di coniugazioni; sono le „Hungerteilungen“ di R. Hertwig. Quanto all'ultima divisione, le nostre osservazioni mostrano la sua natura non speciale, sicchè si deve ritenere non abbia nulla a che fare colla riduzione e maturazione dei nuclei. E ci accostiamo perciò alla geniale concezione di Boveri (92), sostenuta anche da Versluys, che essa corrisponda alla prima divisione dell'uovo fecondato. Rückert nei Copepodi ha dimostrato che la parte maschile e femminile della cromatina, nel primo fuso di divisione dopo la copulazione (ed anche nelle divisioni successive) si mantengono distinte. Per la condizione speciale della coniugazione dei Ciliati (e quali siano cfr. nello scritto del Versluys), la formazione di questi fusi — paterno e materno — è andata avvenendo sempre in luoghi più distanti tra loro; i fusi si formano nei due gameti, separatamente, e si riuniscono poi le parti che ne sono originate — con fecondazione doppia incrociata. Ora io dico che se prima si poteva sostenere qualche altra teoria, adesso non si può più; e ciò è merito dell'osservazione di Russo e Di

Mauro, i quali nella coniugazione del *Criptochylum echini* hanno trovato fenomeni nuovi, nel comportamento dei nuclei, fenomeni i quali mi sembra realizzino nè più nè meno che uno stadiò intermedio, nelle sviluppo della coniugazione dei Ciliati, quale è stato immaginato dal Boveri; nè è la prima volta che questo illustre citologo ha la soddisfazione di trovarsi dinanzi ad un caso di questo genere. L'importante fenomeno osservato dal Russo e Di Mauro e da essi paragonato a quanto avviene nei Saccaromiceti (Guillermond 02) consiste in ciò che nel *Criptochylum* sunnominato, non vi è fecondazione doppia, incrociata; bensì i nuclei dei due gameti — dopo le due divisioni di maturazione — dopo queste sole due divisioni, si noti bene — si avvicinano al punto d'unione dei gameti stessi e si fondono; poi l'unico nucleo formatosi si divide *in situ*, e le due metà si allontanano, per andare ciascuna di nuovo in un gamete; qui abbiamo dunque rispetto alla copulazione il primo passo, consistente nella non fusione permanente dei citoplasmi, mentre i nuclei si fondono prima di dividersi, — ma per tosto separarsi — anzichè dividersi prima di fondersi, come per un differenziamento ulteriore succede negli altri Ciliati. Un altro stadio di trasformazione si può poi riconoscere p. e. nella coniugazione del *Dendrocometes paradoxus* (Hickson e Wadsworth 02), nella quale l'ultima divisione avviene come di solito, separatamente nei due gameti, ma molto vicino alla parete divisoria; cosa che, del resto, si verifica forse anche in altri Infusorî.

È caratteristico a proposito di tale questione che, la fusione dei nuclei avviene in generale allo stato di fuso, nei Ciliati, come se ciò stesse a ricordare la tendenza che questi nuclei hanno ad antecipare i fenomeni di divisione, rispetto a quelli della unione sessuale. Nel caso dei Vorticellidi, come dalle minute ricerche sopra descritte resulta evidente, siamo un poco più indietro; vale a dire la fusione nucleare non accade allo stadio di fuso, bensì in una condizione di quelle che vengono dette „di riposo" dai citologi. I nuclei che nella Opercularia si fondono in questo stadio, formano un fuso cariocinetico dopo la divisione, mentre negli altri Ciliati già l'hanno formato, prima di fondersi. Questo fatto è una conferma delle vedute del Boveri, illustrate più ampiamente nel dotto scritto del Versluys, giacchè qua, dove, dati i rapporti genetici dei Vorticellidi, compare una piccola retrocessione, vengono per l'appunto a mancare quelle condizioni che sono state invocate come moventi nell'antecipazione dei fenomeni di divisione sopra a quelli di fusione; queste condizioni sarebbero il grande differenziamento morfologico dei Ciliati, e la

conseguente utilità di una unione soltanto parziale, al momento della funzione copulativa; e qui appunto, nei Vorticellidi, per una ragione differente, ossia per un differenziamento ancora ulteriore dei gameti, si è ritornati, quanto al grado dell'unione dei gameti, alle condizioni più antiche, che si verificavano nella copulazione.

Anche CLARA HAMBURGER discute la questione di queste omologie, estesamente; essa combatte l'idea di GIARD che l'ultima divisione sia omologa alla seconda di maturazione dell'uovo; ora poi che si conosce che alla precedente divisione avviene la riduzione, nel *Didinium nasutum* e nell'*Opercularia coarctata* — per opera delle ricerche rispettivamente di PRANDTL e mie, l'idea di GIARD diviene insostenibile. Le due divisioni dette negli Infusorî di maturazione sono ormai dimostrate corrispondere nei loro dettagli a quelle omonime dei Metazoi. — Un'idea dell'autrice è degna di essere raccolta: essa suppone che l'ultima divisione sia in qualche modo simile a quella che si osserva nelle Fanerogame, nelle quali le ricerche di GUIGNARD (00) e NEWASSCHIN (99) hanno dimostrato il fenomeno così detto della doppia fecondazione; dopo le divisioni di maturazione vi è una terza divisione, ed i due nuclei prodotti vengon fecondati ciascuno da uno spermio sì da produrre da una parte l'embrione, dall'altra l'endospermio. Questa somiglianza che per la lontananza degli organismi considerati (quanto alla filogenesi) e per le condizioni così particolari in cui si verifica non può avere affatto il valore di una diretta omologia, suggerisce però una possibilità per le Angiosperme di cui si tratta: che anche qui una divisione dell'uovo fecondato si sia antecipata, in modo da prodursi due cellule uovi prima della fecondazione, di cui, in questo caso, ciascuno fecondabile da un distinto spermatozoo; si avrebbe soltanto una corrispondenza perfetta cogli Infusorî, quando anche per gli spermatozoi si avesse una terza divisione, nelle specie a fecondazione doppia — cosa di cui, per quanto so, non è affatto il caso. In ogni modo dobbiamo riconoscere qui un caso interessante di convergenza.

Dunque, per riassumere la trattazione di questa ultima questione, possiamo dire che *un fenomeno intimo dell'attività nucleare è tornato un poco indietro nei Vorticellidi*, rispetto agli altri Ciliati, e forse *in rapporto col fatto che una condizione che lo aveva determinato negli altri Ciliati* (utilità dell'unione parziale dei gameti) è *venuta per vie nuove di nuovo a mancare.*

VII. Opercularia coarctata. Orientazione dei nuclei nella coniugazione.

1. Orientazione in generale.

Ed ora passiamo ad altre importanti questioni, riguardanti l'orientamento delle figure mitotiche nei varî stadî, questioni di cui abbiamo fatto solo pochi cenni nel corso della descrizione.

La prima divisione del micronucleo nel microgamete, si presenta, allo stadio di fuso con cromosomi distinti, orientata in direzione normale alla superficie di contatto. Da questo non deriva che i due nuclei cui esso dà origine siano orientati ugualmente; la loro congiungente è situata in un piano parallelo alla superficie di contatto. Perciò non si può supporre che la disposizione del fuso sia quella che è, collo *scopo* di dare una particolare disposizione ai due nuclei che ne derivano; essa è probabilmente conseguenza delle relazioni che esistono trai due gameti. Quando avviene la divisione seguente, il micronucleo del macrogamete non presenta una orientazione particolare nè fissa, venendo esso travolto nei movimenti che avvengono dentro all' Infusorio. Nè ho potuto notare alcuna orientazione fissa dei due nuclei in divisione nel microgamete, rispetto alla superficie di contatto col macrogamete. Presentano invece una orientazione caratteristica i due fusi primarî e secondarî di questi ultimi nuclei, tra di loro. I loro assi sono perpendicolari,[1]) o poco si allontanano da questa posizione. Poco più sotto giustificherò questa affermazione, riportando il resultato delle misurazioni fatte a questo proposito. Nel periodo dell' allungamento l'orientazione più usuale è quella di una certa tendenza al parallelismo; ma non mi sembra punto che questo sia un fenomeno costante, avendo spesso osservato dei nuclei molto lunghi, in orientazione varia. Quando i cromosomi si portano verso i poli del fuso e ne resultano due masse cromatiche riunite da filamenti, si può spesso sospettare che la orientazione precedente (consistente nell' avere le strutture corrispondenti, perpendicolari tra loro) sia conservata; vedasi p. e. la Fig. 17. Ma la relativa non frequenza di questi stadî, e la difficoltà di fare misure in questo caso, mi hanno distolto dal proposito di portare la questione anche qui sul terreno

[1]) Questi assi sono sgbembi, con questa perpendicolarità voglio esprimere brevemente il fatto che il piano su cui giace la loro congiungente più breve ed uno di essi, è perpendicolare all' altro. Nella misura dell' „angolo trai due assi" is tratta dunque appunto dell' angolo formato tra uno di questi piani e l' altro asse.

delle cifre. Qnello che però è certo, per l'osservazione diretta, è che i due pezzi del cordone rinnente, dopo che è rotto, rimangono orientati parallelamente (come mostra la Fig. 17) indicando in questo caso che strutture simili sono parallelamente orientate.

Nella seconda divisione di matnrazione, *si ripete per il macrogamete quanto abbiamo detto per il microgamete nella divisione precedente*; e nel microgamete l'orientamento dei 4 fusi è difficile a studiarsi, dato il loro numero; ma quando due di essi sono lontani dagli altri 2, si constata la perpendicolarità trai due di ciascnna coppia. Nello stadio dell'allnngamento, i 4 nnclei sono irregolarmente disposti.

Nell' nltima divisione, si hanno altre orientazioni. Il nucleo del microgamete, che si divide, mentre gli altri degenerano, occupa nelle prime fasi delle sne trasformazioni nna posizione centrale nel microgamete, ma non ha nna orientazione determinata. Quello del macrogamete, è vicino alla parete che separa in dne gameti, ed anch' esso senza orientazione. Quando comincia a comparire il fuso, comincia anche a manifestarsi una certa orientazione (Fig. 94) la quale è nettissima nello stadio della piastra equatoriale (Fig. 24): *i dne fusi hanno per asse la medesima retta*. Molti individui che ho esaminato in questo stadio, hanno mostrato sempre la cosa così netta, che non ho crednto pnnto necessario procedere a delle misurazioni; la cosa sarebbe stata più facile che per l'orientazione perpendicolare delle divisioni precedenti, ma era inutile. I due fusi, oltre ad essere orientati in questo modo, sono anche talmente vicini, che solo una membranella, la parete divisoria dei due gameti, sta tra di essi. Poi, procedendo la divisione, essi si allontanano un poco, perdendo contemporaneamente l'orientazione che avevano, ma non del tutto; ossia le due masse nucleari che si formano da ciascun fuso rimangono su dne rette che fanno nn angolo piccolo tra loro, senza però essere parallele nè coincidere. Le Fig. 25 e 26 mostrano chiaramente la cosa. Questo leggiero disorientamento non impedisce però di decidere quali siano i nuclei destinati ad unirsi: qnesto anzi è già deciso nello stadio della Fig. 94; non appena cioè, nella ultima divisione, i nuclei dei due gameti cominciano ad allungarsi, è fisso che la parte di ciascnno che è rivolta verso il compagno, si trasformerà in pronucleo, rimanendo l'altra destinata alla degenerazione. Questo fatto però non dice nulla se la destinazione di uno dei nuclei alla copulazione sia dipendente dalla posizione o da qualche differenza esistente trai due nuclei gemelli. Il Maupas, che è della prima opinione rispetto agli

Infusorî in genere, si basa appunto sulla mancanza di caratteri strutturali diversi visibili trai due nuclei, di cui uno rimane stazionario, e l'altro migra nel gamete compagno — nella coniugazione parziale dei Ciliati.

2. Misure degli angoli trai fusi omosessuali.

Vogliamo ora intrattenerci maggiormente del fatto principale osservato in questo studio della orientazione delle figure mitotiche, cioè della perpendicolarità dei due fusi omosessuali, nella prima divisione di maturazione del microgamete e nella seconda del macrogamete. Questo fatto sembra avere una importanza, messo insieme coll' altro che nell' ultima divisione, l' unica in cui i fusi eterosessuali si trovino vicini, l' orientazione è invece sullo stesso asse.

Mi posi dunque alla ricerca di un metodo per misurare l'angolo fatto dagli assi dei fusi cariocinetici. Evidentemente l' osservazione diretta dei preparati non dice molto a questo proposito, perchè i fusi capitano irregolarmente orientati rispetto all' asse del microscopio, e solo in casi eccezionali si può giudicare dell' angolo che fanno tra loro, così a semplice sguardo, quando essi capitino ambedue perpendicolari all' asse del microscopio, od uno perpendicolare e l' altro parallelo. In questi casi l' impressione è nettissima, che siano essi tra loro perpendicolari; ma meglio resulta, anche in questi casi, la cosa dalle misure. — Determinazioni di questo genere richiedono in primo luogo che i preparati su cui sono fatte, siano per quanto è possibile soddisfacenti a certe condizioni. Le Opercularie non devono essere tropo contratte dai reagenti, nè compresse dai vetrini. Quanto alla prima cosa, una buona fissazione, e passaggi molto graduati nei varî reattivi, servono all' uopo; quanto alla seconda condizione, bisogna non appoggiare i due vetrini uno sull' altro, ma interporvi qualche cosa, dei capelli per esempio. Ma per poter osservare in queste condizioni le Opercularie mediante i più forti ingrandimenti, è anche necessario di ricorrere al metodo dell' attaccamento spontaneo sul coprioggetti, come è descritto nella parte tecnica. Questi preparati è anche bene che siano inclusi in balsamo, non in glicerina; le misure si fanno dopo qualche giorno che il preparato è chiuso, così il balsamo essendosi un poco addensato, non è possibile che le Opercularie si muovano, nell' osservazione coll' immersione.

Quanto alle misure esse non offrono nessuna difficoltà di principio, ma solo qualche difficoltà tecnica, data la piccolezza degli oggetti da misurare. Servendomi sempre dei più forti obbiettivi ad

immersione, ho proceduto alle determinazioni seguenti: *la lunghezza degli assi*, quale appare misurata col micrometro oculare, ossia *la proiezione orizzontale* di questa lunghezza; *la proiezione verticale*, servendomi della vite micrometrica del microscopio; mettendo in fuoco prima un estremo dell' asse fusoriale, e poi l' altro, si leggono due numeri nella graduazione della vite micrometrica. La loro differenza si moltiplica poi per un coefficiente — nel nostro caso vicinissimo ad 1, esprimente il rapporto tra l' indice di rifrazione nel balsamo del Canadà e nell' olio di cedro. Così, adoperando obbiettivi forti ad immersione, si misura con sufficiente esattezza anche la proiezione verticale. Infine misuro *l'angolo fatto dalle proiezioni orizzontali degli assi* dei due fusi, e ciò col seguente procedimento: adoprando l' oculare micrometrico, faccio coincidere colla direzione delle linee della graduazione l' asse di uno dei fusi. Poi, girando il tavolino del

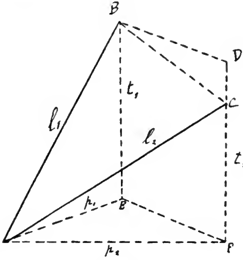


Fig. 2.

microscopio — munito di graduazione angolare, — arrivo a far coincidere con quella direzione l' asse dell' altro fuso. L' angolo di cui ha ruotato il tavolino è uguale all' angolo fatto dalle due proiezioni orizzontali. Così procedevo nelle prime misure; poi modificai di poco l' ultima determinazione, per renderla più spiccia: lascio fermo il preparato ed il tavolino; faccio invece ruotare l' oculare, insieme

colla parte superiore del microscopio, la quale presenta un' avvitatura al principio della parte più grossa del tubo; in corrispondenza di tale avvitatura ho fatto, nel microscopio, nn' apposita graduazione, servendomi di quelle piccole tacche che si trovano nell' apparecchio — almeno nei più usuali modelli — in quel pnnto. L' angolo di rotazione fatta corrisponde sempre a quello delle proiezioni degli assi.

Con qneste tre serie di misure l' angolo fatto dai due assi resnlta determinato; e si calcola nel modo seguente. Suppongo di trasportare uno degli assi parallelamente a sè stesso, finchè nno dei snoi vertici coincida con nn vertice dell' altro; indico con α l' angolo fatto dai dne assi, con β qnello delle proiezioni orizzontali; con l_1, l_2 le lunghezze degli assi, con p_1 e p_2 respettivamente le loro proiezioni orizzontali e verticali; e completo il rettangolo *BEFD*. Allora resultano dalle proprietà dei triangoli rettangoli *ABE*, *ACF* e *BCD* e da quelli non rettangoli *AEF* e *ABC*, le nguaglianze seguenti:

$$l_1^2 = p_1^2 + t_1^2;\quad l_2^2 = p_2^2 + t_2^2$$
$$(BC)^2 = (BD)^2 + (DC)^2 = (EF)^2 + (t_1 - t_2)^2$$
$$(EF)^2 = p_1^2 + p_2^2 - 2 p_1 p_2 \cos\beta$$
$$(BC)^2 = l_1^2 + l_2^2 - 2 l_1 l_2 \cos\alpha$$

Da queste formule deriva, sostituendo nell' ultima i valori di l_1 ed l_2 dati dalle prime due, e quello di $(BC)^2$ dato dalla terza e quarta, e riducendo:

$$\cos\alpha = \frac{p_1 p_2 \cos\beta + t_1 t_2}{\sqrt{(p_1^2 + t_1^2)(p_2^2 + t_2^2)}}$$

Come si vede, la formula dà due valori per il cos α, i quali differiscono solo per il segno; ossia essa dà insieme i coseni dei due angoli supplementari formati dagli assi in questione, ciò che per noi non ha nessun iuteresse, limitandoci sempre a prendere il valore positivo, ossia l' angolo minore di 90°. Su un altro punto è anche da fare attenzione; che t_1, t_2 hanno lo stesso segno quando come nel caso della nostra figura i dne assi hanno gli estremi liberi ambedne dalla stessa parte del piano *AEF*; ma se invece si dà il caso contrario, allora essi devono essere evidentemente presi con segno diverso, ciò che porta nella formula una differenza; il loro prodotto nel numeratore acquista il segno negativo, anzichè qnello positivo.

Prima di riferire i resultati numerici, sarà bene riportare un esempio completo, onde il lettore possa acqnistare una idea precisa

della cosa. Le lunghezze degli assi siano AB ed $A'C$, riportandoci alla figura di sopra, e convenendo che A ed A' siano quei vertici che vengono a coincidere, collo spostamento di un asse parallelamente a sè stesso. Nell' esempio che riportiamo, si tratta di un microgamete, e precisamente di quello del quale un fuso è rappresentato nella Fig. 13. Le misure hanno dato:

$$AB = \mu\, 7{,}75 \quad A'C = \mu\, 9{,}3 \quad \text{angolo } BAC = 79{,}6^\circ$$
$$A = 9{,}1 \quad B = 8{,}9 \quad A' = 4{,}8 \quad C = 7{,}1$$

Nell' ultima riga sono indicati, per ciascun vertice di ciascun asse, i numeri letti nella graduazione della vite micrometrica (grande stativo per la microfotografia, di ZEISS, ultimo modello). Siccome A ed A' sono i vertici che vengono a coincidere, e passando da A a B l' asse del fuso è diretto verticalmente da una parte, mentre passando da A' a C è diretto dall' altra parte del piano orizzontale passante per A (piano AEF — infatti mentre è $B < A$, $C > A'$), il prodotto delle proiezioni verticali va qui preso col segno negativo. Quanto al valore in micron di queste proiezioni, esso è dato dalla differenza di altezza dei due fuochi (per il primo asse, $9{,}1 - 8{,}9 = 0{,}2$) moltiplicata per il valore in micron di ciascuna divisione nella graduazione della vite micrometrica — ossia moltiplicata per 2 — e moltiplicata ancora per un coefficiente, poco diverso dall' unità, il quale si ottiene facendo il rapporto tra l' indice di rifrazione della sostanza in cui si trova l' oggetto da misurare (balsamo del canadà) e quello della sostanza in cui avviene lo spostamento dell' obbiettivo (olio di legno di cedro). Applicando la formula, si ottiene dall' esempio citato, il valore di $\alpha = 89^\circ$. Si noti che in questo caso i due assi erano un poco differenti di lunghezza, come resulta dai numeri (tanto la proiezione orizzontale che la verticale del secondo è maggiore di quella del primo), ma questo fatto che si verifica in grado piccolissimo di solito, dipende da una circostanza particolare del caso riportato, ove, come verrà detto poco sotto, uno dei fusi era allungato in direzione delle fibre, l' altro nella direzione perpendicolare.

Riporto ora i resultati numerici delle determinazioni fatte nei microgameti. Si tratta sia dei fusi primari, sia dei fusi secondarî, sempre in tale stadio che la forma sia quasi sferica, o pochissimo allungata; le misure riguardano la prima divisione di maturazione. Il caso citato sopra è compreso nella lista. Fatto il calcolo, si son soppresse sempre le frazioni di grado, segnando il numero più vicino al resultato effettivo. I varî casi sono ordinati per valori decrescenti:

90° 89° 89° 86° 86° 86° 86° 84° 83° 82° 81° 80° 77° 77° 77° 76° 76° 75° 75° 72° 71° 66° 65° 65° 64° 59° 56° 56° 55° 55° 54° 52°.

E per la seconda divisione nel macrogamete:

84° 84° 78°.

A queste si aggiungono alcune altre determinazioni, fatte nelle prime ricerche, su preparati che non erano stati fatti appositamente per questo scopo; in essi non si era eliminata la possibilità di una compressione delle Opercularie; gli individui scelti per le misure non mostravano però traccia di compressione; si tratta della prima divisione di maturazione nel microgamete:

84° 83° 76° 56° 56° 48°.

Infine, riporto alcune misure fatte in altri stadî, nei quali vi era il fuso primario allungato più o meno:

75° 50° 48° 32° 29° 21° 10°.

Abbiamo in tutto 41 caso per le misure nello stadio di fuso non allungato e 7 casi per altri stadî. Questi 7, come si vede, mostrano che non esiste nessuna regola dal momento che gli angoli variano da 75° a 10°.

Nello stadio delle piastre equatoriali invece, nessuno dei casi misurati — e sono 41 — ha indicato l'esistenza di un angolo, trai due assi, inferiore a 45°; anzi il più piccolo angolo misurato è di 48°; vi sono 12 casi sopra 80°, ed in tutto 27 casi sopra 70°. Ora se nessuna forza vi fosse che tendesse a orientare questi assi tra loro, evidentemente sopra 41 casi non sarebbe possibile che tutti fossero compresi tra 45° e 90°. Se una tale tendenza esiste, noi siamo portati a ritenere che essa non consista in una orientazione trai 45 e i 90°, bensì in una forza che orienterebbe i due assi in direzione perpendicolare tra loro, se non vi fossero degli ostacoli ed impedimenti; a questo concetto siamo portati da due argomentazioni; prima, dal fatto che nelle misure stesse, in seno a questo angolo compreso trai 45° e i 90°, sovrabbondano i casi che si avvicinano, anche in modo veramente mirabile, ai 90°; in secondo luogo, le forze capaci di manifestarsi con una tendenza all'orientazione, in due corpi simmetrici rispetto a un asse e al piano equatoriale, e girevoli, agiscono per ragione di simmetria in tal modo da tendere a produrre una orientazione parallela o perpendicolare.

Posso poi aggiungere i resultati delle osservazioni fatte sul vivo, le quali non sono riducibili in numeri, trattandosi di oggetti in continuo movimento, ma sono molto caratteristiche. Nello stadio di fuso pochissimo allungato, che corrisponde a quello delle misure fatte, i due nuclei maschili ed i due femminili quando è il loro turno,

appaiono come orientati ad angolo retto, orientazione che conservano nonostante i movimenti della cellula; l'osservazione è più caratteristica per i nuclei femminili, che sono travolti in continno movimento nel corpo cellulare; accade talvolta che essi si disorientino, in seguito a qualche impulso; ma tosto assnmono nuovamente la posizione di prima in cui si mantengono a lnngo e specialmente qnando i movimenti generali sono poco accentuati. Essi si mantengono sempre assai ravvicinati tra loro.

Si conclude dunque che *esiste una forza tendente a fare orientare i fusi mitotici in direzione perpendicolare.* Prima di pronunciarci su questa forza, vogliamo esclndere una possibilità la quale potrebbe facilmente venire in mente. Si potrebbe pensare che le condizioni di spazio tendessero a produrre qnesta orientazione, data la forma allungata dei fusi. Ma una simile supposizione non regge. In primo luogo abbiamo accennato che tra le varie misure fatte ve ne sono alcune i cui soggetti erano sensibilmente sferici; ed anzi sono tra le misure più favorevoli.[1] In secondo luogo vi è nn caso nel quale uno dei fusi era allungato nella direzione delle fibre, e l'altro in direzione perpendicolare; se la forma allnngata dei fusi fosse la cansa dell'orientamento, in qnesto caso l'angolo doveva essere di 0°; ed invece era di 89°; infine, nel macrogamete non potrebbe in nessnn modo reggere una supposizione di limitazione di spazio o simili, giacchè i fusi natano nel plasma, muovendosi in tutti i versi, travolti dalle correnti protoplasmatiche.

Siamo perciò portati a credere che nna forza agisca trai due fusi vicini.

3. Ipotesi per spiegare le orientazioni dei fusi mitotici.

È impossibile precisare la natura di questa forza, ma possiamo ricercare le condizioni in cui essa agisce. Desidero essere completamente obbiettivo in queste interpretazioni, ennnciando alcune ipotesi, riunite in due gruppi che si escludono a vicenda.

1ª *ipotesi.* L'orientazione perpendicolare è connessa colla

---

[1]) Il *fnso*, nella mitosi, è *nna strnttnra*, e se è vero che l'origine della parola sta nella usuale *forma* a fnso, è anche vero che ormai si dice *fnso mitotico*, senza pensar troppo ai dettagli di qnesta forma, anche se essa è *sferica o allungata per l'altro verso*; e il dire „*fibre divergenti del fnso*", per qnanto nna contraddizione in termini, mi par sempre il miglior modo di esprimere la cosa senza introdnrre perniciosi neologismi.

omosessualità dei fusi vicini, e la orientazione sullo stesso asse, nell' ultima divisione, colla eterosessualità.

2ª ipotesi (subordinata alla prima). Esiste in ciascun fuso una carica potenziale, e di segno contrario in ciascun sesso; a queste cariche si devono i fenomeni di orientamento, per la repulsione delle cariche omonime e attrazione delle cariche eteronime (come se si avessero dne sfere cogli assi carichi di elettricità positiva o negativa: se le sfere son tenute a contatto, ma girevoli, gli assi si dispongono parallelamente se le cariche sono eteronime, e come i fusi cariocinetici omosessuali, se le cariche sono omonime). Esisterebbe insomma un potenziale sessuale — il quale si formerebbe in individui che sorgono per divisione da uno privo di queste cariche (divisione sessnale); il fenomeno ricorda l' elettrizzazione eteronima contemporanea di due corpi strofinati.

Di fronte a qneste ipotesi, poniamo qneste altre:

3ª ipotesi. L' orientazione perpendicolare dei fusi omosessuali è un fenomeno connesso colla mitosi, indipendentemente dal sesso. L' orientazione snllo stesso asse, nell' nltima divisione, ha ragioni particolari, forse connesse colla sessualità, o meglio con quel determinato momento della coniugazione.

4ª ipotesi (subordinata alla 3ª). Esistono in ciascun fuso mitotico cariche potenziali tendenti ad orientarli in direzioni perpendicolari. L' orientazione speciale dell' ultima divisione, si deve a condizioni particolari, ed è resa possibile dalla connessione intima di due poli, uno di ciascnn fuso (cfr. Fig. 24).

Ed ora, è necessario qualche raffronto colle teorie dinamiche della mitosi (Gallardo, Rhumbler 03). Si è snpposto che in essa agiscano forze newtoniane, e che nei centrosomi esistano due poli di segno contrario, rappresentando le fibre fusoriali ecc., linee di forza delle cariche. Qnesta ipotesi è contraddetta nettamente — per ciò che riguarda la diversità di segno dei poli sitnati nei centrosomi, dalle mitosi pluripolari (cfr. Rhumbler 03), come si può subito intendere dato che qneste hanno nna simmetria nella quale tntti i poli (Centrosomi) si mostrano eqnivalenti. Ora essa è contraddetta anche dalla direzione perpendicolare dei fusi vicini in *Opercularia;* di più essa non tien conto di alcnni stadî, in cni fibre vanno dai centrosomi ai cromosomi situati in massa da parte (prima che i centrosomi abbiano assunto la posizione polare, in molte mitosi); questi stadî anzi mi pare siano stati fino ad ora poco presi in considerazione a qnesto proposito. Infine, essa non spiega l' allontanamento dei centro-

somi, che, siano due o più, tendono a porsi più lontani che sia possibile.

La repulsione dei fusi (orientazione perpendicolare) e questa dei centrosomi mi hanno suggerito l'idea che si tratti nella mitosi di forze newtoniane, simili alle elettriche e magnetiche, e come esse a due segni, ma con una disposizione dei poli diversa da quella finora supposta, nella quale sembrami che si sia dato troppa prevalenza al centrosoma. Due poli omonimi nei centrosomi, ed uno eteronimo nel cerchio equatoriale (specialmente dovuto a cariche dei cromosomi), posson sostituire nei riguardi delle linee di forza due poli eteronimi situati nei centrosomi; si conciliano colla presenza di mitosi pluripolari, spiegano la repulsione trai centrosomi, spiegano meglio delle altre ipotesi l'avvicinamento dei cromosomi verso i centrosomi (ed il loro distacco), rendon conto delle linee di forza tra centrosomi e cromosomi negli stadî precedenti la piastra equatoriale, ed infine fanno presumere l'orientamento in direzione perpendicolare dei fusi messi in vicinanza, come nel caso delle divisioni di maturazione dell' Opercularia. L'orientamento delle ultime divisioni, sullo stesso asse, sarebbe dovuto all'unione di due poli (appartenenti ai due fusi) in uno solo; ne deve seguire un tale orientamento, da rendere le altre parti dei fusi lontane quanto è possibile. E ciò è infatti.

Mi sembra che questa teoria, mentre prende in considerazione alcuni fatti in più delle precedenti, e specialmente questi nuovi fenomeni di orientamento da me osservati, non urti, come quella dei due poli di opposto segno nei centrosomi, nelle obbiezioni portate dall'uguaglianza del loro comportamento. RHUMBLER (03) ha vinto queste difficoltà, pensando a forze newtoniane che non abbiano due poli — nord e sud — come le attrazioni magnetiche; mi sembra però che la mia ipotesi non offra quelle difficoltà da cui esso è partito, e che meglio si accordi coi nuovi fatti.

Bastino questi cenni. La trattazione completa dell'argomento potrebbe farmi introdurre in questo scritto una parte altrettanto lunga quanto è esso attualmente, ed uscire completamente dal campo e dagli scopi delle presenti ricerche. La rimando perciò ad altra occasione.

Il contrasto che esisterebbe trai nuclei eterosessuali secondo l'ipotesi 2ª andrebbe d'accordo anche con alcune ricerche citologiche, di AUERBACH, il quale avrebbe riscontrato una colorabilità antagonistica nei pronuclei maschile e femminile, di fronte a colorazioni doppie — se queste osservazioni, che sono state in parte criticate da R. HERTWIG (92) — si confermino.

Naturalmente, l'idea di un contrasto trai due sessi, di qualunque natura esso sia, riceverebbe invece un colpo forte quando si dimostrasse ciò che taluni hanno affermato (p. e. Jickeli 84), che si possono eccezionalmente coniugare due microgameti tra loro. Le osservazioni che sono citate a questo titolo sono però affatto superficiali, esse non riguardano per nulla la copulazione nucleare, nè dimostrano affatto che da una simile unione di microgameti sia derivato un individuo atto a vivere. Si tratta evidentemente di fusioni plasmatiche, forse in microgameti in qualche modo alterati, fenomeni insomma che non hanno alcuna importanza dal punto di vista che ci occupa, e possiamo affermare, senza tema di cadere in errore, che, dovunque vi è una differenziazione sessuale, soltanto trai due sessi differenti è possibile la fecondazione.

VIII. Il differenziamento sessuale nella Vorticella microstoma (Ehrbg.).

Questa specie non presenta la facilità di coltivazione della *Opercularia coarctata*, ma si presta assai per gli studî sulla coniugazione, perchè epidemie insorgono assai facilmente colle solite condizioni alimentari. Essa si presenta come è noto sotto aspetti assai varî, tanto che il Fauré-Fremiet (05, 2) la ha identificata con un'altra supposta specie, la *V. hians*. — Io ho fatto culture continuative, partendo da un unico individuo isolato; come alimento, il solito infuso di fieno, ma mescolato con acqua bollita, quest' ultima in discreta quantità. Soltanto nelle culture molto ricche si può senza pericolo dare un infuso assai concentrato, certamente perchè esse possono più efficacemente lottare contro l'eccessivo sviluppo batterico.

Volli verificare la questione del differenziamento dei macrogameti, osservata nella Opercularia. La produzione dei microgameti è nella *Vorticella microstoma* un poco più semplice, essi derivano per gemme che si staccano direttamente, ossia senza dividersi susseguentemente in due o in quattro, come nell' altra specie studiata. Però da un individuo possono derivare parecchi microgameti, successivamente.

Gli esperimenti son stati condotti collo stesso metodo, isolamento di individui comuni, più microgameti; d' altra parte isolamento di individui che stanno formando un microgamete, soli, o coll' aggiunta di altri microgameti estranei. I resultati non sono stati così costanti come nell' Opercularia, nel senso che la prova positiva anzichè sicura

è soltanto probabile; la prova negativa è ugualmente sicnra. In altre parole, non son mai riuscito ad avere coningazioni, adoperando individui comnni; sono rinscito ad averle servendomi di individui aventi a lato il microgamete in formazione, ma non son riuscito sempre. Ciò non costituisce alcnna differenza sostanziale, quando si consideri, che la resistenza, in questa specie, alle condizioni variate è molto inferiore che nell' *Opercularia*. La *Vorticella microstoma* offre nna buona percentuale di perdite, quando si fanno esperimenti di isolamento, anche colla maggior cura; quando si trasportano individui in una piccola goccia, spesso essi si distaccano dal peduncolo, per andare a fissarsi in nn altro posto; tutte cose che coll' *Opercularia* si evitano facilmente.

Anche nel caso della *Vorticella microstoma* ho osservato la divisione dei macrogameti, indipendentemente dalla coningazione, ciò che avviene anzi assai facilmente negli esperimenti non riusciti di coniugazione. Ma in sostanza la conclusione generale che gli individui comnni non possono fnngere da macrogameti, e quelli che hanno formato microgameti, si, si mantiene rigidamente. Anche qui ho osservato che nn gran numero di coniugazioni si formano — nelle culture madri — su qnegli individui che hanno ancora attaccato il microgamete, ciò che è sempre conferma della stessa cosa. Certamente forme di questo genere devono essere state vedute dai più antichi osservatori, ma certamente sono state confuse con produzione snccessiva di microgameti. Non ne ho trovati accenni nella letteratura. Ad evitare la confusione, oltre lo studio diretto con forti ingrandimenti, vale il decorso dell' insieme, di cui ci si assicnra coll' isolamento.

Un altro curioso fenomeno si riferisce ai microgameti. Mi è capitato di vedere molti microgameti attaccati reciprocamente in gruppi, come se si volessero coningare. Però ho potuto seguire il loro destino e constatare che essi vanno a morire. Anzi, suppongo che le descrizioni date da autori specialmente antichi di eventuali possibili coniugazioni tra due microgameti, altro non siano che il resultato di osservazioni simili a qnesta ma più incomplete. Perchè poi questi microgameti vogliano morire in compagnia, naturalmente non posso indovinarlo.

Su questa specie, che è facile tanto ad incistidarsi che a coniugarsi, ho trovato campo propizio per studiare qnali condizioni prodncano l' nno, e quali l' altro dei due fenomeni. È noto infatti che condizioni dello stesso genere sono spesso invocate come causa di tutti e due, p. e. il digiuno da R. HERTWIG (1899), mentre altre

volte è il disseccamento che si palesa come causa dell'incistidarsi. Ricordo però a questo proposito, che una cosa non esclude l'altra; p. e. nel *Colpoda Steini*, il quale notoriamente si incistida per disseccamento, nelle mie culture si formavano cisti durature anche in seguito al solo digiuno, esclnso ogni disseccamento.

Nella *Vorticella microstoma*, è il digiuno che produce le cisti e le coniugazioni; ma sono due forme particolari, differenti, di diginno: se si pongono delle Vorticelle ben nutrite in un liquido poverissimo di alimento, si producono le cisti, raramente coningazioni; se invece si rende rigogliosa nna cultura, dandole sempre nnovo alimento, la scarsezza di cibo causata non da povertà del liquido, ma dall'eccesso numerico degli Infusori, provoca coningazioni, e non incistidamento. Si conclude perciò che la prodnzione delle cisti è in relazione colle condizioni chimiche del liqnido, colle sostanze in esso disciolte; invece il prodnrsi delle coningazioni è in rapporto col fatto in sè della mancanza di cibo — dopo alimentazione abbondante, si capisce. Quando si trasportano le Vorticelle in un ambiente povero di sostanze disciolte, allora l'incistidamento prende il sopravvento sopra alle coningazioni, che pnre possono in piccolo nnmero formarsi. Questo resultato, che si presenta molto netto, costante, negli esperimenti, ci rende conto del disincistidamento, nelle cisti che son poste in un ambiente liquido ricco di sostanze disciolte; è sempre nna influenza chimica, in nn senso o nel senso opposto; la produzione delle coniugazioni, ha come si vede un meccanismo ben diverso.

Di qnali sostanze disciolte si tratti, è facile capirlo, pensando che gli infusi i quali hanno l'influenza di impedire l'incistidamento o di farlo cessare, sono infusi ricchi su cni pnò vegetare una microflora ed una microfauna abbondante; si tratta dunque di qnelle sostanze — senza precisarne la natnra chimica — che son capaci di nntrire le vittime dei pasti delle nostre Vorticelle.

Il fatto che generalmente negli ambienti culturali si sovrappongano le dne condizioni, di ricchezza di queste sostanze disciolte, e ricchezza di microflora e microfauna, — o reciprocamente povertà dell' una e dell' altra delle dne condizioni, spiega come spesso ci si trovi impacciati a capire la ragione per cui si produce incistidamento o coningazioni, in casi apparentemente simili. Non voglio però con questo generalizzare affatto questo concetto, giacchè è noto che l'incistidamento ha svariate cause determinanti, e tra queste, p. e., sta anche la temperatura, come ha mostrato R. Hertwig per il *Dileptus gigas*, (04) e Smith per l' *Actinosphaerium Eichhorni*.

IX. Il differenziamente sessuale nel Carchesium polypinum (Ehrbg.).

Come in altro punto ho accennato, gli esperimenti che ho fatto con questa specie non mi hanno condotto a resultati definitivi. L'impossibilità di trovarla adesso nelle vicinanze di Bologna mi fa rimandare ad un'epoca indeterminata il completamento di questo studio, e mi spinge a riferire le osservazioni che ho fatto fin qui, e che pure ad alcune conclusioni conducono. Lo scopo della ricerca era ancora quello di determinare se, come avevo riscontrato nell' *Opercularia coarctata*, e come trovai poi anche nella *Vorticella microstoma*, esista nel *Carchesium* pure una „divisione sessuale". Le difficoltà di allevamento non mi hanno permesso negli esperimenti fatti, di servirmi di una cultura continuativa, nè derivata da un individuo isolato. Cominciai a trovare microgameti in rami di *Carchesium*, il 17. 4. 06. Siccome io mi aspettavo di trovare le coniugazioni in questi stessi rami, in vicinanza dei microgameti, osservai attentamente ed a più riprese; ma senza nessun resultato positivo; chè anzi, trovai parecchie coniugazioni in altri rami, dove non erano microgameti; allora isolai alcuni rami con microgameti, e li osservai per tutta una giornata; i microgameti si staccarono, girarono attorno agli altri individui, ma non entrarono in coniugazione. Contemporaneamente, unii un ramo con microgameti, ed uno contenente una coniugazione. Dopo meno di un'ora, essendosi staccati alcuni microgameti, osservai una coniugazione di più nel ramo che ne aveva prima una. E questo fu tutto il resultato.

Il 24. 4. 06, ad ore 15, isolo un ramo di circa 50 individui, in cui sono due gruppi di microgameti, ed uno in formazione, in rametti differenti, ed insieme ad esso pongo un altro rametto, di 20 individui, con una coniugazione. Il 25 a ore 8, il rametto di 20 ne ha 33, con 6 coniugazioni, una delle quali con due microgameti; il ramo di 50 non ha più microgameti, ma nemmeno coniugazioni. Fino ad ore 21, nulla di mutato, tranne l'aumento numerico degli individui; alle 21 le coniugazioni non sono ancora terminate, e nel ramo che aveva ieri microgameti, vi è un gruppo di piccoli individui, dall' aspetto caratteristico che precede la formazione dei microgameti. Il 26 ad ore 8,30 vi sono parecchi microgameti in giro, ed ancora uno nel ramo che fino allora era stato maschile. Nell'altro ramo le coniugazioni sono finite e non ve ne sono di nuove. I rami principali vanno poi accidentalmente perduti. Si seguitano le osserva-

zioni coi rametttini che si erano formati nel frattempo, da individui che si erano staccati dai rami, ed attaccati al vetrino. Alle ore 10 noto un individuo fisso al vetro e non ancora ramificato, cui un microgamete si accosta: alle ore 12,30 esso è in coniugazione. Nulla di interessante fino al 1° Maggio; in questo giorno ci sono molti rametttini, alcuni neutri, altri esclusivamente maschi, altri esclusivamente femmine. Hanno questi, microgameti o coniugazioni, rispettivamente, in più posti. Se ne isolano alcuni, dei quali nessuno nei giorni successivi cambiò sesso, ma nessuno ebbe anche vita più lunga di due o tre giorni in buone condizioni. Anche la cultura principale d'esperimento verso il 9. 5 cominciò a deperire.

Ripetuti molte volte questi esperimenti, ebbi sempre uguali resultati, constatando che erano sempre unisessuali rami piccoli o grandi fino a contenere alcune centinaia di individui; e dico rami, nel senso, ben si capisce, che si tratta di gruppi derivati ciascuno da un solo individuo. Una sola volta mi accadde di trovare una coniugazione in un ramo isolato il giorno precedente, con 2 gruppi di microgameti in formazione e circa 50 individui. Il valore di questa eccezione, che ho riferito per scrupolo di coscienza, non saprei affatto definirlo; essendo un caso solo, di fronte a molte diecine di isolamenti e centinaia di rami sempre constatati unisessuali, mi è anche sorto il dubbio che si sia trattato di qualche errore di osservazione.

Quanto alla interpretazione delle cose vedute, evidentemente esse non dicono niente riguardo alla soluzione del problema proposto. Esse esprimono però qualche cosa di sicuro, rispetto alla differenziazione sessuale nel *Carchesium*, dicono che nelle colonie esistono rami maschili, rami femminili e rami neutri. Solo una volta parve, se non fu un errore, che un ramo maschile si trasformasse in ramo femminile. Con ciò si viene a dire che certamente i microgameti non son così legati da parentela coi macrogameti, come nell' *Opercularia coarctata* e nella *Vorticella microstoma*. Se una divisione sessuale esiste, nel senso che abbiamo dato a questa espressione, essa deve essere molto precoce; quando un individuo si fissa e proliferando forma un ricco ramo, dovrebbe già essere differenziato in un sesso, ciò che si accorderebbe col fatto di aver trovato individui appena fissati, e non divisi, già in coniugazione con microgameti estranei; ma non con quanto abbiamo osservato nelle altre specie studiate, che un macrogamete, qualora non si coniughi, torna neutro, ossia capace di dividersi sessualmente un' altra volta, esso od i suoi discendenti. Qui, dove abbiamo rami che

sono maschili o femminili, soltanto in quanto contengono alcnni individui così differenziati. non possiamo ritenere che tutti gli altri lo siano di necessità — gli altri, che segnitano a dividersi, e possono, distaccandosi dal ramo, formare nuove colonie. D'altra parte il differenziamento di un intero ramo in nn sesso mal si intenderebbe senza supporre che fosse già differenziato l'individuo che gli ha dato origine. Sì che saremmo tentati di supporre che il differenziamento sessuale si intrecci in modo assai complesso colla possibilità di perdere le caratteristiche di questo differenziamento.

Come conclusione di fatto, ci contentiamo di affermare che un ramo anche grosso, derivato da un individuo, non contiene mai contemporaneamente micro e macrogameti, sebben i macrogameti anche qni non siano distinguibili dagli individni comuni.

Evidentemente non a differenze di condizioni esterne subite si può attribuire questo fatto, perchè in una grossa colonia, dove ciascun ramo ha un sesso solo, è impossibile ammettere che gli individui dei rami vicini abbiano subito condizioni più differenti di quelle dei singoli individui di nn sol ramo.

Per qnanto ho potuto trovare nella letteratura, è solo il PLATE (88) che ha fatto qualche osservazione del genere in un Vorticellide coloniale *(Lagenophrys)* nel quale ha visto molti rami che pareva fossero dedicati solo a fornire microgameti, ed altri nei quali osservava coniugazioni; ma naturalmente queste osservazioni hanno nn valore limitatissimo, dato che non sono controllate coll' esperimento; di più devonsi anche avere dei dubbi qnanto al riconoscimento delle forme, perchè l'A. ha talora evidentemente preso stadî della coniugazione, per stadî di formazione dei microgameti; infatti descrive la formazione dei microgameti con frammentazione del macronncleo, la quale corrisponde esattamente a quanto si sa oggi avvenire nella coniugazione.

X. La degenerazione senile.

La questione della degenerazione senile degi Infusori, la quale ha una importanza grande di fronte ai problemi della biologia generale, voglio trattare qui un poco più estesamente di quanto abbia fatto fino ad ora nelle mie precedenti note, che avevano un carattere essenzialmente sperimentale; e mi propongo di far ciò,

perchè ritengo colle presenti ricerche la questione sia definitivamente esanrita.

Il concetto dell' invecchiamento degli Infnsorî si basa principalmente sui classici esperimenti del Maupas, il qnale non ha potuto coltivare qnesti Protozoi in piccole cnltnre (ove non si osservavano coniugazioni) a lungo, indefinitamente; fenomeni degenerativi sopraggiungevano dopo alcune centinaia di generazioni. L' idea ha incontrato molto nel mondo scientifico, perchè si accordava colle nostre conoscenze sulla morte negli organismi superiori. In altro articolo (Enriques 07, 2) ho illustrato come la necessità della morte si sia probabilmente sviluppata in conseguenza o in accordo con altre dne condizioni: differenziamento morfologico e, condizione prima, diminuzione delle capacità assimilatrici. Il concetto della morte non si deve estendere per il solo desiderio di estenderlo — dagli organismi superiori ai Protisti — se non è dimostrato in questi ultimi direttamente. Quanto alla dimostrazione data dal Maupas, io oppongo i segnenti fatti:

1° Cnlture derivate da un solo individno Infusorio possono mantenersi in bnone condizioni per centinaia e centinaia di generazioni, pnrchè siano osservate alcune norme tecniche (Enriques 05) — all' infuori di coningazioni o di azioni stimolanti.

2° Mancanza di attitndine alla scissione, degenerazione e morte della cnltnra si osserva dopo pochissime generazioni, nelle cultnre nelle quali si sia coscientemente aumentata la quantità dei batterî e dei loro prodotti — soprattutto die questi — (Enriques 03, 05). Le degenerazioni che in tal caso si producono sono esattamente uguali a quelle descritte dal Maupas, e siccome nelle culture di qnesto sperimentatore non era sufficientemente provveduto al cambiamento del liquido, ne segue che a questo fatto — fonte di eccessivo sviluppo batterico, si deve attribnire il fenomeno della degenerazione da lui riscontrato.

3° La coniugazione non si produce soltanto dopo lunga serie di generazioni agame, la quale abbia prodotto una maturità sessnale e la necessità del ringiovanimento. Essa si pnò prodnrre anche dopo pochissime generazioni. Qnesta conclnsione che resulta dalle presenti ricerche, è l' ultimo colpo alla teoria della degenerazione senile.

4° Per determinare la coningazione in una cultnra, occorrono condizioni particolari, ma esclusivamente

condizioni di ambiente, tra le quali prima di tutte quella del digiuno dopo ricca alimentazione, come è stato chiaramente messo in evidenza dalle ricerche del MAUPAS, e di altri. Però dagli esperimenti che io ho fatto qualche cosa di più è resultato, in quanto sempre nuove condizioni appaiono, come determinanti o necessarie, sempre nuove condizioni, ma puramente esterne. Così quella, nel *Colpoda Steini*, della necessità di trovarsi gli Infusorî in uno strato verticalmente sottile; solo in questa condizione si possono coniugare.

Quanto a ciò che è detto nel numero 3, il BÜTSCHLI (76), nelle sue ben note ricerche sulla coniugazione degli Infusorî, aveva già ottenuto coniugazioni dopo alcuni giorni che in un vetrino eran stati dei Parameci exconiuganti; esperimenti che però non valsero ad impedire che il MAUPAS elaborasse e il mondo scientifico accettasse il concetto della preparazione attraverso a molte generazioni agame, alla maturazione sessuale. Non molto più dunque varranno le analoghe ricerche di JOUKOWSKY fatte nello stesso modo sugli stessi Infusori. Le mie ne differiscono in due punti, sia in quanto esse si riferiscono a parecchie specie di Infusorî, appartenenti a gruppi molto differenti, sia perchè è da questi esperimenti resultato che esattamente le stesse condizioni che producono l'epidemia di coniugazioni in grande, la producono in piccolo, nei pochi e prossimi discendenti da pochi exconiuganti o da uno solo; mentre altrimenti coniugazioni non si producono. Per ogni verso dunque vediamo che solo le condizioni esterne sono capaci di indurre gli Infusorî in coniugazione, essendo a questo riguardo indifferente che molte o poche generazioni li separino dalle coniugazioni precedenti, o che essi siano o no tra loro prossimi parenti.

Dobbiamo ora prendere in considerazione parecchi fatti e parecchie idee che sull' argomento sono state emesse, onde vedere come si accordino coi nostri resultati, e se in altre ricerche si trovino ostacoli all' accettazione delle nostre conclusioni.

BALBIANI (1891), confermato poi da JOHNSON, ha fatto l'interessante osservazione che lo *Stentor caeruleus* presenta un fenomeno di periodica atrofia e rigenerazione, in varie porzioni del suo corpo: durante queste rigenerazioni il macronucleo subisce modificazioni come all' inizio della scissione; l' A. crede che questo fenomeno serva a compensare l' usura che si produce nel funzionamento dell' Infusorio, come accade p. e. nei Parameci, i quali rigenerano parti al momento della coniugazione. Si avrebbe insomma qui, se non erro nell' inter-

pretare il pensiero dell' autore, un ringiovanimento parziale, che verrebbe paragonato a quello più profondo dovuto alla coniugazione, e che sarebbe richiesto da condizioni dello stesso genere. Che un consumo di determinati organi in determinati organismi possa aver luogo e richieda un rifacimento periodico, non lo contrasto. Io credo però che questi fenomeni, entro certi limiti diffusi nel regno animale, abbiano nulla a che fare colla coniugazione, perchè appunto la facoltà di riparare le perdite esiste nell' organismo anche indipendentemente da essa. Le osservazioni di Balbiani ci dimostrano proprio questo in maniera molto elegante. Dello stesso genere di queste osservazioni sono anche quelle di Wallengren, per le quali molti organelli sono stati visti formarsi di nuovo nei Ciliati, negli individui appena nati per scissione; però la cosa si presta bene alla spiegazione dell' A., del tutto diversa che nei casi precedenti, per la quale la neoformazione sarebbe una necessità dati i rapporti di grandezza anormali tra gli organelli antichi ed il corpo dell' Infusorio nuovo.

Le perdite nella coniugazione, ed in special modo la distruzione del macronucleo, sono prese da alcuni in considerazione, per dire che i Protozoi non sono immortali, venendo in queste parti che si distruggono rappresentato il soma dei pluricellulari. P. e. così dice Hickson, 01. Non desidero per nulla di entrare qui a discutere questa lunghissima questione di parole, dell' immortalità dei Protozoi, ma soltanto osservo che la questione è tolta, per ciò che riguarda la supposta distruzione della parte somatica, dal momento in cui è dimostrata la coniugazione non essere necessaria per la propagazione e conservazione della specie.

Un posto speciale in questa discussione meritano le ricerche di Calkins e quelle di R. Hertwig. Quanto alle prime, io credo che l' A. nei successivi lavori sempre più si discosti dalla teoria classica della degenerazione senile; in ogni modo posso osservare che i suoi esperimenti, mediante i quali esso ha potuto per molte generazioni mantenere in vita culture di Parameci a patto di assoggettarli di quando in quando a stimoli chimici od altri, non offrono per nulla la possibilità di attribuire il resultato ad una specie di partenogenesi artificiale, come vorrebbe l' autore. Egli è in ciò guidato evidentemente dal concetto che le degenerazioni — depressioni — osservate nelle sue culture siano dipendenti dalla mancata coniugazione; ma ciò non è punto di per sè evidente, tanto più che egli non ha colla coniugazione rimediato alla depressione; ora è evidente che di partenogenesi si potrebbe trattare soltanto quando gli Infusorî

depressi fossero realmente pronti alla coniugazione; e si ristabilissero senza di questa, per l'inflnenza di certi stimoli. Ora, non solo ciò non resnlta punto dalle ricerche che l' A. ha fatto, ma resulta adesso dalle mie, che le degenerazioni osservate nelle cultnre derivano da azioni nocive, batteriche, come già altri autori le hanno potute produrre per azione di campi magnetici, in poche ore (CHÉNEVEAU e BOHN, GRENET). Gli stimoli, che il CALKINS fa agire, finiscono nelle sue ricerche per acqnistare sempre una importanza maggiore rispetto alla coniugazione, alla qnale egli nel 1902 già vuol negare l' efficacia ringiovanente, che attribnisce invece agli stimoli.

Essi occupano un posto simile anche nelle ricerche del WOODRUFF fatte sn altre specie di Infusorî, ma con simile indirizzo generale. Ma qnale può essere l' effetto di qnesti stimoli? Essi consistono in cambiamenti di ambiente o di condizioni fisiche, capaci benissimo di modificare lo svilnppo dei Batterî, o di indurre nei Parameci realmente una maggior forza per reagire a quelle condizioni sfavorevoli che nelle cnlture si erano palesate col fenomeno della diminuzione di attitudine riproduttrice. La possibilità di tali azioni nocive non era dal CALKINS evitata, giacchè resulta dalle mie ricerche che essa si può, alla lunga, evitare solamente qnando tntti i giorni si muti il liqnido alimentare agli Infusorî coltivati, dando ad essi ogni volta un infuso che si trovi nelle stesse identiche condizioni di tutti i precedenti, essendo cioè preparato di fresco — nno o dne giorni prima, o magari nel giorno stesso.

Di più, sta il fatto che l' A. ha conclnso colla morte dei suoi Parameci (04), nonostante le azioni stimolanti. E siccome dalle sue ricerche dednce che la coningazione non ha effetto di ringiovanimento, ne segue che quei Parameci vengono ad essere considerati come inevitabilmente destinati a morire, a non propagare la specie oltre i limiti d' esperimento dell' A. Ciò costitnisce nna conclnsione evidentemente assurda, onde non giusta è l' interpretazione degli esperimenti. La cosa mi sembra di una evidenza indiscutibile.

A conferma del mio modo di interpretare i resultati di CALKINS, vi è però ancora un altro fatto, ugnalmente decisivo quanto quello testè citato.

Nelle ricerche fatte da lni con LIEB (02), mentre gli Infnsorî che son stati sottoposti agli stimoli, si sono mantenuti in vita, quelli che son stati alimentati sempre con iufuso di fieno, son morti, dopo 69, 135, 164 generazioni, ecc.; cioè dopo nnmeri di generazioni piccolissimi, rispetto anche alla teoria del MAUPAS; numeri che sono stati più volte superati senza nessuna difficoltà da varî autori, p. e.

dal Maupas stesso. In conclusione, questi resultati mostrano che la tecnica adoperata in queste ricerche non è stata abbastanza scrupolosa per lo scopo.

Più si accostava alla verità il Kulagin, nel ritenere che le degenerazioni, anzichè senili, siano dovute ad una intossicazione, basandosi sul fatto che Infusorî in via di degenerare migliorano e guariscono se portati nell' acqua pura. Però l' A. pensava ad una autointossicazione, ciò che è resultato infondato per i miei esperimenti, sia quelli nei quali ho mostrato l' influenza degli infusi più o meno vecchi (1905) sia e più dai primi esperimenti (03) nei quali ponevo uno o più Infusorî in piccole gocce di un infuso riccamente batterico; osservavo la degenerazione tanto più facilmente quanto più scarsi erano gli Infusorî in numero, o più grande la goccia — ciò contro quello che accadrebbe per una autointossicazione, ed in favore dell' idea che siano i Batterî la causa della degenerazione: se gli Infusorî son numerosi, lottano più energicamente mangiando i Batterî, e forse anche per altre vie, impedendo insomma almeno l' ulteriore sviluppo di quella microflora.

La „degenerazione fisiologica" descritta da Hertwig nell' *Actinosphaerium*, sarebbe la conseguenza di condizioni esterne, anzichè interne, come la degenerazione descritta dal Maupas e creduta senile. Questa di R. Hertwig, sarebbe indipendente dal numero delle generazioni per scissione che son trascorse dalla coniugazione precedente, ciò che non esclude un rapporto colla coniugazione, nel senso che questa può essere una delle vie di ricostituzione delle capacità normali, fisiologiche, degli animali; conclusione questa a cui, veramente, l' A. arriva molto più per induzione teorica che per gli esperimenti fatti. Questi hanno dimostrato che gli Actinosferî sottoposti ad un regime di alimentazione eccessiva vanno incontro ad una degenerazione, che si manifesta coll' ingrossamento dei nuclei ed il loro disfacimento in cromidî. In varie pubblicazioni l' A. mette in evidenza l' importanza che ha questo comportamento di fronte al normale funzionamento dell' Actinosferio. E per assicurarsi che i nuclei giganti non derivino da una infezione, egli ha fatto l' esperimento seguente: presi alcuni individui ancora sani da una cultura dove erano anche dei malati, e messi in acqua pura, essi hanno avuto la stessa sorte degli altri, andando incontro alla formazione dei nuclei giganti ed alla morte; di più, uniti degli Actinosferî normali e che non erano stati iperalimentati, con altri che avevano nuclei giganti, mentre questi ultimi in alcune settimane sono morti, i primi sono rimasti in vita e normali, senza formazione di nuclei

giganti. Gli esperimenti dimostrano che questa particolarità dei nuclei e la conseguente morte non sono causati da una infezione. La conclusioue sembra anche a me giusta; ma non mi sembra però giusta la conclnsioue ulteriore, che la degenerazione sia dunqne conseguenza del fatto di essere gli Actinosferî alimentati eccessivamente. In che cosa consiste l' alimentazione eccessiva, ossia le condizioni che la permettono? Si tratta di dare a qnesti Protozoi altri Protozoi, in abboudanza; si tratta di nnire un nnmero considerevole di *Stentor* agli Actiuosferî; ora, chi assicura che la presenza di qnesti organismi, di cui quelli si cibano, non produca una intossicazione degli Actinosferî? Vediamo in primo luogo se gli esperimenti di HERTWIG tolgano qnesta possibilità, poi esaminermo la probabilità che essa ha. Qnando gli Actinosferî malati souo uniti ad altri sani, si capisce che la intossicazione supposta nei malati non debba necessariamente attaccarsi, influire sui sani. L' esperimento esclnde la presenza di un germe infettivo, ma nou la presenza di un' azione dannosa tossica, precedentemente snbita dagli Actinosferî a nuclei giganti. L' altro esperimento, del mettere Actiuosferî apparentemente sani, ma trovati insieme a dei malati, nell' acqna pnra, non dimostra nemmeno che essi siano privi di nn germe infettivo, dal momento che essi mnoiono; esso potrebbe esservi contenuto e svilnpparsi poi a suo agio dnrante la vita nell' acqna pnra, nello stesso modo che si ammalano di colèra o di peste iu paesi dove qneste malattie non esistono, molti che scappano da uu posto al momento dell' epidemia; essi parevano sani — come gli Actiuosferî — ma avevano il germe della malattia in loro. Ma non monta: la presenza di un' infezione è già esclusa dall' esperimento di sopra. Però auche questo di cni ora trattiamo, non dimostra che l' azione producente la morte sia l' iperalimentazione. Siamo iu presenza di individui i quali dobbiamo credere sarebbero morti rimanendo nell' ambiente ove erano iperalimentati; e che son morti ngualmente, sebbene tolti di là quando parevano ancora normali. Erano essi normali? Evidentemente no, giacchè sou morti nell' acqna pnra; nè HERTWIG crede che fossero normali, sia in base all' esperimento, sia in base al fatto che essi avevano subito l' azione della iperalimeutazione, che aveva ammalato i compagni. Essi dunque sembravano normali, ma avevano in sè tntte le condizioni atte a svolgere qnella particolarità dell' ingrossamento dei nuclei, a cui segue la morte. Si conclnde dunque che nell' ambiente dove gli Actinosferî vengono iperalimentati, essi snbiscono un' azione che resta nascosta all' osservatore anche fiuo ad un punto a partire dal quale la vita degli animali è già compromessa,

in qualnnque condizione poi essi si vengano a trovare. *Questa conclnsione è lecita, ma solo qnesta.* Decidere che questa azione dannosa dipenda dal fatto di aver mangiato troppo, è arbitrario; modificazioni dovute a questo fatto possono altrettanto bene seguitare ad agire negli individui che vengan poi tolti dal mangiar molto, quanto modificazioni dovnte a tossine possono seguitare a svolgersi anche dopo tolti gli animali dall' azione tossica. Il veleno era già assorbito, e li ha ammazzati lentamente poi. Quante volte l' esperienza medica insegna che i veleni assorbiti dall' organismo, lentamente accumulati magari in organi ghiandolari speciali, proseguono poi ad agire (anche evitando nuovo assorbimento di veleno) compremettendo la salute molto più che nel periodo in cui l' uomo era in atto soggetto all' azione esterna del veleno! E che dire dei sieri, i quali iniettati nel sangue prodncono azioni tardive, perfino dopo mesi, e forse anni? *L' esperimento di* Hertwig *non esclnde perciò affatto la tossicità dell' ambiente in cui i nuclei giganti si formano, in cui si produce la così detta „degenerazione fisiologica", attribuita al mangiar molto.*

E non è pnnto strano supporre che la presenza di molti *Stentor* producesse un ambiente in qualche modo dannoso, tossico per gli Actinosferi. Non vediamo forse ogni giorno gli organismi lottare con ogni mezzo per assicurarsi il possesso del cibo? Una cultura per qnanto rigogliosa di *Stylonichia pustulata*, quando vi vengano aggiunti alcuni individui di *Glaucoma scintillans*, si trasforma spesso in una cultura di Glaucoma, senza che più si veda nemmeno una Stilonichia; nè i Glaucomi, tanto più piccoli, mangiano le Stilonichie; tutti gli esperimenti i quali dimostrano la tossicità dei Batterî sopra ai Protozoi, sono sempre l' espressione di una legge generale medesima. Il ritenere che l' aggiunta di una quantità cospicua di *Stentor* sia innocua per gli Actinosferi, è supposizione arbitraria, per la quale bisogna trascurare il ricordo della lotta per l' esistenza, bisogna dimenticare che, come gli Actinosferi lottano contro gli *Stentor* per mangiarli, questi lotteranno contro gli Actinosferi per non esser mangiati. Di più, oltre gli *Stentor* saranno presenti anche altri organismi, di cui gli *Stentor* si devon cibare, ed a questi pure può esser riserbata una parte, nella complicata lotta per la conservazione della vita, dentro la cultura dell' illustre zoologo di München. Con tutto il rispetto dunque per le sue ricerche, dalle quali spesso scaturiscono fatti importanti, che in parte abbiamo anche in questo scritto ricordati, e con tutto il rispetto per la sua insigne attitudine

a cavare dalle cose la sintesi, i concetti generali, — devo affermare nel modo più reciso, che *la così detta „degenerazione fisiologica“ degli Actinosferi, ha tntti i caratteri di una degenerazione patologica, per le condizioni in cui si produce.*

Nella questione della possibilità di avere coningazioni con individui che poche generazioni prima erano stati in coniugazione, evidentemente i resnltati positivi da me ottenuti tolgono qnalsiasi dubbio, anche di fronte ad altre ricerche che portavano alla conclusione opposta, p. e. quelle del Simpson; se a lui non è riuscito l'esperimento, ciò vnol dire che non gli è riuscito di porre i suoi Infusorî nelle condizioni adatte; nè è ciò strano, date le difficoltà che ci sono nella cosa. Più notevoli sono trai snoi resnltati qnelli relativi alla divisione, che ha trovato compiersi negli exconinganti e prossimi discendenti, come negli individui normali.

Insomma le speranze che R. *Hertwig* (02) esprimeva relativamente agli Infnsorî come bnon terreno di studio per le differenze che passino tra individui da poco coniugatisi, sembra non abbiano più affatto luogo di esistere, in quanto *solo le condizioni esterne decidono se una nuova coniugazione deve intervenire o no, non il tempo, brevissimo o lunghissimo, decorso dalla coningazione precedente.* Quelle speranze, una delle conseguenze dell' idea della degenerazione senile, devono dar luogo alla constatazione della inesistenza di differenze fnnzionali a qnesto riguardo, quindi, senza dubbio, della inesistenza anche di differenze morfologiche, non appena gli Infusorî che si considerino abbiano terminato quella serie di modificazioni cui la coningazione dà luogo.

La conclusione generale che noi ricaviamo da tutte qneste considerazioni, riguardo alla biologia dei Protozoi, e degli Infnsorî in particolare — è che *la attitndine a dividersi e così propagare la specie, si mostra negli esperimenti, indefinita, senza necessità nè di coniugazione, nè di stimoli, nè di limitare l'appetito, purchè le condizioni della cnltura evitino con sicurezza le azioni dannose dovute ad altri organismi.* È nostro compito, nello stndio di questi fenomeni, di tenere sopra tutto presente la lotta per l' esistenza, in tutte le sue forme, ed acquistare la sicurezza che essa non intervenga a danno della specie presa in considerazione; ciò facendo, non si arriva a vedere il termine della capacità di propagazione per scissione; ma basta dimenticare questo importante fattore un momento

solo, anche parzialmente, perchè una catastrofe divenga — colla massima probabilità — irrimediabile. Come già ho detto nelle mie note precedenti, da ciò non segue logicamente che gli Infusori, o qualunque altro organismo, possa propagarsi in eterno per scissione — come ciò non è dimostrato che possa avvenire anche dato che intervergano coniugazioni. Le mie ricerche e ragionamenti annullano la portata di quelle fatte dagli altri autori per dimostrare la estinguibilità della razza quando si mantengano gli Infusori in condizioni sempre uguali e si impedisca la coniugazione. Non più di così è possibile fare: un' affermazione per l' eternità, esce dai limiti della conoscenza umana. Noi però possiamo affermare: avvengano le coniugazioni, o gli Infusori siano coltivati all' infuori di esse, abbiamo le stesse prove della loro attitudine a propagarsi indefinitamente.

XI. A che serve la fecondazione?

Ma se la coniugazione non serve a impedire la degenerazione senile, perchè una „degenerazione senile" non esiste, nè una „degenerazione fisiologica" di qualunque tipo, se insomma non serve a regolare o compensare i fenomeni della vita organica — come vorrebbe R. Hertwig, in base al concetto della degenerazione per abbondante alimentazione — a che cosa serve l' unione di due masse nucleari, che è forse un fenomeno diffuso dappertutto negli organismi viventi? Quel che ci appare come più strano è appunto la esistenza di una funzione così generalizzata, di cui poi la mancanza procurata artificialmente, con speciali condizioni di vita, non dà segni alcuni di procurare inconvenienti. Stabilito nettamente questo ultimo concetto, come resulta dalle ricerche che siamo andati facendo in questi ultimi anni, esso deve essere necessariamente uno dei capisaldi, nella interpretazione dei fenomeni di congiungimento nucleare, mentre da un lato toglie la possibilità di una quantità di teorie, basate sopra alla credenza opposta. Anche la mancanza di una maggior prolificità dopo la coniugazione, o di una prolificità minore prima, è stata dimostrata sperimentalmente dal Maupas, e giustamente presa in considerazione da R. Hertwig (02). Questi si oppone anche al concetto di Bütschli del ringiovanimento, in base a questi caratteri manifestati dalla prolificità in rapporto alla coniugazione, e perchè

non potrebbe spiegarsi il bisogno di un ringiovanimento nella cellula uovo, che appare come più giovane, rispetto alle altre del corpo.

Ed anche giustamente osserva (00) che la fecondazione è collegata con una forma di propagazione nei pluricellulari, ma non nei Protozoi, dove l'unica forma di propagazione è la divisione.

La teoria che l'amfimixi sia fonte di variabilità, ed in questo consista il suo significato, è da troppe parti combattuta, perchè io qui voglia estendermi a discuterla; accenno soltanto che da un punto di vista aprioristico non si intuisce come possa la mescolanza di due nuclei produrne uno che devii dal tipo medio più di ciascuno dei due; ed a posteriori l'esperienza quotidiana dimostra come i figli abbiano caratteri intermedî trai genitori; chè se ne sono diversi, ciò accade anche di quelli nati partenogeneticamente; e le differenze massime si incontrano negli ibridi, la cui deviazione dalle proprietà dei genitori rappresenta non un fattore di variabilità, ma di fissità, ricordando essi nei loro caratteri, forme ancestrali meno differenziate.

Siamo entrati in questa discussione, perchè la esperienza acquistata cogli Infusorî ci ha posto, come dicevo, dinanzi ad un punto di partenza ben netto. I fatti che a tutti sono noti permettono di pensare che in generale la unione dei gameti porti ad una mescolanza di caratteri, e quindi contribuisca a mantenere la fissità dei caratteri specifici. Vi è forse una utilità in ciò? È questo che ci si palesa chiaro in base all'esperienza acquistata. Enunciamo questa proposizione: l'esistenza di limiti ristretti di variazione, nella specie, è condizione indispensabile per la conservazione dei suoi individui e discendenti. Ed ora vediamo come siamo giunti a questo concetto. Le culture che permettono agli Infusorî di propagarsi indefinitamente — senza coniugazioni nè stimoli — li mantengono anche in limiti ristretti di variabilità, nell'aspetto generale, grandezza ecc., come ci dimostra l'osservazione diretta, in confronto con quelli della stessa specie che menano vita più libera dalle mani dello sperimentatore; ed in queste condizioni non si manifesta nè la necessità della coniugazione per la conservazione della vita, nè l'attitudine alla coniugazione — la maturità sessuale. Questa attitudine, dalla quale derivano le epidemie di coniugazioni, si palesa in condizioni che offrono una grande ricchezza di forme individuali varie, per grandezza, aspetto generale ecc.; essa deriva anzi da una variazione di condizioni, assai determinata, e consistente essenzialmente in una modificazione della quantità di alimento. Si accompagna sempre con una prolificità grande, sia per

la abbondanza di nutrimento prima, sia anche nella pennria di cibo che precede immediatamente la comparsa dell' epidemia. La coningazione insomma non compare in condizioni di fissità di ambiente esterno — e di forme individnali —, compare in determinate condizioni di variazioni esterne — accompagnate da variabilità di forme individuali. Il concetto che essa abbia nn' ufficio nello stabilire nna certa media tra le varie forme sorge spontaneamente da ciò; e se osserviamo che negli Infusorî ove non si riscontra un differenziamento sessuale vero e proprio, pure è facile vedere quanto siano diversi i gameti che si uniscono tra loro, l'idea prende maggior consistenza. — Quando noi facciamo degli allevamenti in condizioni fisse e permettenti la propagazione indefinita, senza coniugazione, poniamo al riparo i nostri Infusorî da quelle variazioni di ambiente, le quali, producendo cospicne variazioni, anche negli Infusorî, portano alla coniugazione — che qui si palesa come elemento allivellatore. Quale poi sia in ultima analisi il giovamento che le specie traggono da questo allivellamento, è facile supporlo, osservando come ciascuna specie operi compatta nella lotta per l'esistenza, vincendo con forze meccaniche o chimiche le difficoltà dell' ambiente e gli ostacoli frapposti allo sviluppo, dagli altri organismi. Solo operando in maniera concorde — specialmente dal punto di vista chimico — è possibile la vittoria, secondo il vecchio adagio: „l' unione fa la forza“.

Questo modo di considerare le cose mi sembra che, senza forzare i fatti, accordi qnei fenomeni così in apparenza contraddittorî, qnali sono la generale diffusione del processo coniugativo, nelle sue più varie forme, e d' altra parte la non necessità di esso per la conservazione della specie. L' nnione sessuale, elemento allivellatore, è un fattore di lotta. Eliminando od attenuando il bisogno di lottare, la coniugazione nè si produce, nè vi è bisogno che si produca. Natnralmente le condizioni in cui il processo fecondativo si palesa nei pluricellulari, sono derivate in seguito al processo evolutivo da questi così semplici che si verificano nei Protisti; nè è da meravigliarsi che questo elemento — potenzialmente non necessario nei Protisti — sia divenuto necessario nella maggior parte dei pluricellulari, ed anche in alcuni unicellulari, massime parassiti, giacchè di fronte alla potenziale non necessità, che è dipendente da una riduzione della lotta per l' esistenza, sta sempre nel fatto una lotta intensa, e quindi il bisogno e l' opera del processo copulativo.

Onde non appaia che questa variabilità cui si accenna sia immaginaria, citerò le osservazioni del Simpson, da cui resulta (02) che i fratelli gemelli nati dalla divisione di un Paramecio o di una

Stilonichia, non sono uguali tra loro; si può constatare che hanno piccole differenze di costituzione.

E negli esperimenti di ENTZ (03) sulla variabilità negli Infusori, è apparso chiaro all' autore, che essa dipenda dalle condizioni esterne.

Collo svolgimento di questo concetto, naturalmente veniamo a rifiutare le altre idee espresse in proposito. Quella di WEISMANN in primo luogo per le ragioni già accennate; quella di BÜTSCHLI del ringiovanimento, criticata del resto anche da altri che pur partivano dell' idea di un ufficio in qualche modo compensatore, della coniugazione; tra questi R. HERTWIG (cfr. 02) per aver dimostrato che gli excopulanti si dividono meno degli individui comuni; e la teoria di HERTWIG stesso, il quale pensa che la fecondazione rinforzi i poteri regolatori, e quindi sia tanto più necessaria, quanto più alta è l' organizzazione e quanto più attiva è la vita. Il punto di partenza, come si vede, è sempre quello degli esperimenti sull' *Actinosphaerium*, i quali abbiamo creduto di dovere interpretare del tutto diversamente dall' A. stesso.

In che cosa consistono questi poteri regolatori, è ben chiaro dalle sintetiche discussioni che si trovano in molti altri lavori dell' A. Per attenerci ad uno dei più recenti (05), egli sostiene che il rapporto tra nucleo e citoplasma — oltre che per le diverse condizioni di ambiente, — varî anche per il solo fatto di una lunga serie di divisioni agame. Il nucleo aumenta a spese del plasma, quando si palesa la depressione nelle culture di *Actinosphaerium Eichhorni*; questo disturbo di equilibrio deve esser regolato, corretto, altrimenti segue la morte. Osserviamo qui varie cose; in primo luogo, la solita, che la depressione insorge per cause patologiche e non fisiologiche; in secondo luogo, che questo fatto dell' aumento del nucleo non è punto generale; non si verifica affatto negli animali pluricellulari, nei quali anzi al contrario — come ho mostrato in un articolo sulla morte (07) il rapporto si modifica, a partire della blastula e fino alla vecchiaia, in senso inverso a quello detto da HERTWIG; perchè dunque insorgerebbe qui la morte? Perchè l'animale adulto compierebbe la funzione sessuale, quale aumento di grandezza nucleare deve questa compensare, se dal momento dei primi blastomeri all' età adulta il rapporto tra nucleo e plasma è invece diminuito? — Nè maggior valore dimostrativo ha l' osservazione fatta da KASANZEFF e da R. HERTWIG riportata a questo proposito, che i Parameci hanno il nucleo più grosso a digiuno, anzichè se sono nutriti; si tratta, si noti bene, del macronucleo; ed il macronucleo è con molta probabilità omologo parzialmente, ed analogo all' ergastoplasma delle cellule

secernenti (Enriques 07, 1), cioè ha funzioni nella nutrizione, digestione soprattutto; che meraviglia che l'apparecchio della secrezione ingrandisca quando secreto non viene ntilizzato? Onde non giusta è l'interpretazione dell'A., che le divisioni di digiuno siano conseguenza di questo rapporto nucleo-plasmatico modificato, e perciò vengano ad essere in rapporto colla coniugazione. E tanto meno possiamo vedere — conseguenza ulteriore dell'A. — un rapporto tra la maturazione dei pluricellulari e le divisioni di digiuno dei Protozoi; giacchè, se pnre è vero che a queste ultime può seguire la coniugazione — ciò che non accade sempre — è anche vero che tra le divisioni di digiuno e la coniugazione sono interposte le divisioni di maturazione, che corrispondono a quelle omonime dei pluricellulari; nè vale a sciogliere l'intreccio, la supposizione che le divisioni di digiuno servano a maturare il macronucleo, mentre le seguenti, ad operare la matnrazione del micronucleo. Come si può capire questa maturazione del macronucleo, destinato a distruggersi senza prender parte all'atto coningative? Nè le divisioni di digiuno sono in numero fisso (Maupas, citato da Hertwig stesso) nè, lo ripeto e vi insisto — ad esse segue generalmente la coningazione, che ben più raramente si osserva, e che non resulta avvenisse nelle culture prese in considerazione dal Kasanzeff per misurare i nuclei degli animali a digiuno. Altro dunque il significato delle divisioni di digiuno, e facile a capirsi se ci si ponga da un pnnto di vista Spenceriano: la diminuzione di alimento diminuisce la possibilità di nntrirsi; dividendosi ed impiccolendo, l'animale raggiunge nn effetto utile, giacchè la sna superficie è diminuita meno del sno volume (questo in ragione del cubo, quella in ragione del qnadrato della dimensione lineare); e l'assorbimento avviene attraverso a superficie, mentre la sostanza da nutrire rappresenta tutto il volume dell'animale. Che qnesto modo di vedere, sebbene teleologico, non sia errato, lo dimostra il fatto generale, assolntamente generale in tntti i regni della natura vivente, che gli organismi ben nutriti non solo si moltiplicano di più, ma sono anche più grandi di qnelli nutriti male; fatto questo il quale, nonostante la semplicità apparente, nonostante che non vi poniamo attenzione di frequente appunto perchè lo osserviamo continuamente, esprime una proprietà molto intima della sostanza vivente, giustificando il concetto ben noto di Spencer, che la divisione sia necessaria, dato il cambiamento di rapporto tra superficie e volume, quando la cellula o l'organismo sono cresciuti fino ad un certo limite.

Conclndendo, l'azione della coningazione, di regolare il rapporto nucleo-plasmatico, non ha nessuna prova che resista alla critica.

Assai strana è la concezione di LOISEL nel sno complesso; egli crede che la degenerazione dipenda dalla immobilizzazione di una parte delle molecole del protoplasma, si che le sue attitudini assimilatrici sono diminuite; vede nella mescolanza di individui vissuti in condizioni differenti, l'azione del ringiovanimento; molti dati dimostrano l'intensità delle azioni chimiche nella coniugazione: azioni chimiche che si contrappongono alle azioni chimiche della senescenza; questa mescolanza di due individni, di dne plasmi, è la parte essenziale, molto più della fusione nncleare, fenomeno vennto più tardi e che infatti non si osserva sempre.

Osservo in primo lnogo che la così detta senescenza è nna degenerazione non senile, ma patologica, come i miei esperimenti hanno dimostrato; ed in ogni caso l'interpretazione molecolare dell'autore non sarebbe nè un'interpretazione nè nna spiegazione, ma è solo una parafrasi simbolica dei fatti constatati, relativi alla diminuzione di attività vitali che appunto costituisce la parte fnnzionale della degenerazione. In terzo luogo di ringiovanimento non si tratta, e già R. HERTWIG lo ha chiaramente dimostrato, come altrove abbiamo riferito. In quarto lnogo, è assai doloroso che O. HERTWIG, e poi ambedue i fratelli, e molti altri biologi illustri in centinaia di importanti scritti abbiano sostennto e dimostrato come la parte essenziale della fecondazione sia l'nnione dei due nuclei, — non esclndendo con questo, rigorosamente parlando, che anche la fusione dei plasmi abbia un'importanza — perchè si venga a considerare l'nnione nucleare come un piccolo incidente accessorio! Non so se l'A. pensasse con questo alle evidentemente incomplete osservazioni di HOYER (cfr. a pag. 242) o alla plasmogamia delle amebe, la quale non esclude che in un altro momento del loro ciclo-evolutivo ci sia la vera fusione nucleare, tra le forme flagellate.

Strane anche le conseguenze logicamente dedotte da DELBOEUF — per via matematica — da premesse mal poste. Una condizione che faccia variare gli Infusori, purchè continuata indefinitamente, li renderà tutti variati dopo nn certo numero di generazioni, anche se agisca soltanto su una piccola percentnale di individui che nascono per scissione. (Ciò è matematicamente dimostrato.) La variabilità esiste; dunqne tutti gli individui si troveranno modificati, dopo un certo tempo, se non interviene nn' azione regolatrice, innovatrice, la

coniugazione. Con ciò egli si oppone all' appellativo di senile, per la degenerazione osservata dal Maupas. Evidentemente, il problema è mal posto quando l'autore passa allo svolgimento matematico, perchè si suppone una condizione che faccia variare gli Infusori sempre nello stesso senso, cosa che invece non si deve nè può supporre: la variabilità esiste, ma non è dimostrato che nella specie — si riproduca essa agamicamente, od intervenga la fecondazione — tale variabilità sia in un senso costante nei vari individui, e che non si possa tornare indietro, dopo aver subito una determinata variazione; e tanto meno è dimostrato che questa variabilità — quand' anche fosse in un senso determinato — debba condurre necessariamente alla morte se passa un certo limite. Inutile esaminare nei particolari la trattazione matematica della questione, fatta dall'A., la quale pecca anche per altri versi di questo difetto fondamentale — partire da premesse non giuste o non giustificate, e ritenere vere le conseguenze, perchè son dedotte a fil di logica.

XII. Conclusioni più importanti.

1° Possibilità della propagazione indefinita negli Infusori, senza coniugazione nè stimoli, possibilità della coniugazione tra parenti stretti o tra discendenti prossimi di exconiuganti.

2° Impossibilità di coniugarsi, per il *Colpoda Steini*, se l'ambiente liquido supera 2—3 mm di spessore in direzione verticale.

3° Esistenza di una „divisione sessuale" nei Vorticellidi, per la quale micro e macrogameti si formano contemporaneamente da un individuo non sessualmente differenziato; impossibilità della coniugazione, negli individui che non son andati soggetti alla divisione sessuale.

4° Orientamento in direzione perpendicolare dei fusi cariocinetici omosessuali che si trovano contemporaneamente in divisione, in *Opercularia coarctata*, durante la coniugazione; orientazione sullo stesso asse dei fusi eterosessuali, nell' ultima divisione precedente la fusione dei nuclei.

5° Caratteri normali della prima divisione micronucleare nel microgamete in coniugazione, e nell' ultima di ciascun gamete, prece-

dente la fusione dei nuclei. Caratteri particolarissimi delle due divisioni di maturazione, per l' interposizione — in ambedue — di uno stadio di forte allungamento. Esistenza di radiazioni attorno al nucleo di fecondazione, orientate attorno a tutta la massa nucleare, priva di centrosomi, priva di struttura decifrabile in questo stadio.

Precedenza, piccola ma costante, degli stadî nel macrogamete, rispetto al microgamete.

Non posso raccogliere qui i resultati particolari di ciascun gruppo di osservazioni nè voglio raccogliervi le induzioni e vedute di indole generale, le quali perderebbero la loro efficacia, riassunte in poche righe. Posso però riassumere così tutto ciò che per vie diverse si riferisce alla necessità e condizioni della coniugazione:

Gli Infusorî si propagano ugualmente con o senza coniugazione, pur di metterli in determinate condizione di ambiente; il momento della coniugazione è determinato soltanto dalle condizioni di ambiente. Credo che l'effetto (lo *scopo*) della coniugazione sia quello di mantenere una certa fissità della specie, e ciò sia utile nella lotta per l'esistenza, che meglio si deve compiere coll'azione collettiva di individui uguali.

XIII. Bibliografia.

1891 Auerbach, L.: Über einen sexuellen Gegensatz in der Chromatophylie der Keimsubstanzen nebst Bemerkungen zum Bau der Eier und Ovarien niederer Wirbeltiere. Sitz.-Ber. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. Berlin p. 713—750; anche in Berl. klin. Wochenschr. Bd. 28.

1891 Balbiani, E.: Sur les régénérations successives du péristome ecc. Zool. Anz. Bd. 14 p. 312—316 e 323—327.

1858 Bary, A. de: Untersuchungen über die Familie der Konjugaten. Leipzig.

1904 Beauchamp, P. de: Sur la fixation à l'état d'extension des animalcules contractiles et spécialement des vorticelles. Bull. Soc. zool. France Vol. 9 p. 26—27.

1894 Blochmann: Über Kernteilung bei Euglena. Biol. Centralbl. Bd. 14 p. 194—197.

1896 Borgert, A.: Zur Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien. Zool. Anz. Bd. 19 p. 307—311.

1900 —: Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien, speziell von Aulachanta scolymantha. Zool. Jahrb. Bd. 14 p. 203—276.

1906 Bott, K.: Über die Fortpflanzung von Pelomyxa palustris. Arch. f. Protistenk. Bd. 8 p. 120—158.

1892 Boveri, Th.: Befruchtung. Merkel u. Bonnet, Ergebnisse Bd. 1 p. 386—485.
1893 Brauer, A.: Zur Kenntnis der Reifung des parthenogenetisch sich entwickelnden Eies von Artemia salina. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 43 p. 112—123.
1876 Bütschli, O.: Studien über die ersten Entwicklungsvorgänge der Eizelle, die Zellteilung und die Konjugation der Infusorien. Arch. d. Senckenb. Naturf. Ges. Bd. 10.
1887—89 —: Protozoa. Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreiches. Leipzig.
1902 Calkins, G. N.: Degeneration in Paramaecium and so-called „Rejuvenescence" without conjugation. Amer. Morph. Soc. Extr. in Sci. N. S. Vol. 19 p. 526.
1902 —: Studies on the life history of Protozoa. I. The life cycle of Paramaecium caudatum. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 15 p. 139—186.
1902 —: The six hundred and twentieth generation of Paramaecium caudatum. Biol. Bulletin of t. Marine Biol. Laboratory Woods Hall, Mass Vol. 3 p. 192—205.
1904 —: Studies on the life history of Protozoa. IV. Death of the A. series. Conclusions. Journ. Exp. Zool. Baltimore Vol. 1 p. 423—461.
1902 Calkins, G. N. & Lieb, C. C.: Studien on the life-history of Protozoa. II. The effect of stimuli on the life-cycle of P. c. Arch. f. Protistenk. Jena Bd. 1 355—371.
1903 Chéneveau, C. & Bohn, G.: De l'action du champ magnétique sur les Infusoires. C. R. Acad. Sc. Vol. 136 p. 1579—1580.
1901 Cuénot, L.: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. Vol. 17 p. 581—651.
1898 Delage, Y.: Embryons sans noyau maternel. C. R. Acad. Sc. Vol. 127 p. 528—531.
1891 Delboeuf, J.: Une loi mathématique applicable à la dégénérescence qui affecte les Infusoires ciliés à la suite de fissiparitions répétées. Revue scientifique Vol. 47 p. 368—371.
1900 Doflein, F.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. IV. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. Bd. 14 p. 1—60.
1862 Engelmann, Th. W.: Zur Naturgeschichte der Infusionstiere. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 11.
1876 —: Über Entwicklung und Fortpflanzung von Infusorien. Morph. Jahrb. Bd. 1 p. 573—635.
1902 Enriques, P.: Ricerche osmotiche sugli Infusori. Rendic. Acad. Lincei (5) Vol. 11 p. 340—347.
1902 —: Ricerche osmotiche sui Protozoi delle infusioni. Ibid. p. 392—397.
1902 —: Osmosi ed assorbimento nelle reazioni a soluzioni anisotoniche. Ibid. p. 495—499.
1902 —: Adattamento degli Infusori marini alla vita nell' acqua dolce. Monit. zool. ital. Anno 13 (suppl.) p. 49—50.
1903 —: Sull' adattamento degli Infusori marini alla vita nell' acqua dolce. Rendic. Accad. Lincei (5) Vol. 12 p. 83—88.
1903 —: Sulla cosi detta degenerazione senile dei Protozoi. Monit. zool. ital. Vol. 14 (suppl.) p. 349—351. (Stylonichia, Oxytricha.)
1905 —: Della degenerazione senile negli Infusori. Rendic. Accad. Lincei (5) Vol. 14 p. 351—357. (Glaucoma.)
1905 —: Ancora della degenerazione senile negli Infusori. Ibid. p. 390—395. (Stylonichia, Vorticella.)

1907 —: Sui nuclei degli Infusori e le loro omologie. Biologica Vol. 1 (in corso di stampa).
1907 —: La morte. Rivista di Scienze Vol. 1 (in corso di stampa).
1903 Entz, G.: Einiges über das Variieren der Infusorien. Math. Nat. Ber. Ungarn Bd. 19 p. 125--144.
1904 Fauré-Fremiet, É.: Épuration et rajeunissement chez les Vorticellidae. C. R. Soc. Biol. Vol. 57 p. 428—430.
1905 —: Sur la structure du Macronucleus chez les Vorticellidae. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 58 p. 602—603.
1905 —: Sur une variation expérimentale de la Vorticella microstoma. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 59 p. 424—426.
1896 Gallardo, A.: Essai d'interprétation des figures karyokinétiques. An. Mus. Buenos Aires Vol. 5 p. 11—12.
1896 —: La carioquinesis. An. soc. Argent. Vol. 42 p. 5—34.
1897 — Significado dinámico de las figuras cariocinéticas y celulares. An. Soc. Arg. Vol. 44 p. 124, 140.
1902 —: Interpretación dinámica de la division celular. Buenos Aires.
1890 Giard, A.: Sur les globules polaires et les homologues de ces éléments chez les Infusoires ciliés. Bull. scientif. de la France et de la Belgique Vol. 22 p. 202—221.
1904 Grassi, B. & A. Foà: Ricerche sulla riproduzione dei Flagellati. Rendic. Accad. Lincei (5) Vol. 13 (anno 301) p. 241—252.
1896 Greenwood: On structural change in the resting nuclei of Protozoa. I. The macronucleus of Carchesium polypinum. Journ. Physiol. Vol. 20 p. 427—454.
1903 Grenet, H.: Action du champ magnétique sur les Infusoires. C. R. Soc. Biol. Vol. 55 p. 957—958.
1884 Gruber, A.: Über Kern und Kernteilung bei den Protozoen. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 40 p. 121—153.
1900 Guignard, L.: L'appareil sexuel et la double fécondation dans les Tulipes. Ann. de sc. nat. Botanique Vol. 9.
1902 Guillermond, M. A.: Recherches cytologiques sur les levures. Thèse doctorat Paris.
1904 Hamburger, C.: Die Konjugation von Paramaecium bursaria Focke. Arch. f. Protistenk. Bd. 4 p. 199—239.
1877 Hertwig, R.: Über den Bau und die Entwicklung der Spirochona gemmipara. Jenaer Zeitschr. Vol. 11.
1884 —: Über die Kernteilung bei Actinosphaerium eichhornii. Jena. Zeitschr. Naturw. Bd. 17 p. 490—518.
1888 —: Über Kernteilung bei Infusorien. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Vol. 3 p. 127.
1889 —: Über die Konjugation der Infusorien. Abh. d. kgl. bayr. Akad. d. Wiss. Kl. 2 Vol. 17 (1) p. 155—233.
1892 —: Über Befruchtung und Konjugation. Verh. d. deutsch. zool. Ges. Berlin p. 95—113.
1896 —: Über die Entwicklung des unbefruchteten Seeigeleies. Ein Beitrag zur Lehre von der Kernteilung und der geschlechtlichen Differenzierung. Festschr. f. Gegenbaur. Leipzig.
1899 —: Über Kernteilung, Richtungskörperbildung und Befruchtung von Actinosphaerium eichhornii. Abh. d. Akad. München Bd. 19 p. 631—734.

1899 —: [Über die Umgestaltnngen des Centrosoma während der Encystierung von A. E.] Proc. 4. Intern. Congr. Zool. p. 201—202.
1899 —: Was veranlaßt die Befruchtnng der Protozoen? Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. n. Physiol. München Bd. 15 p. 62—69.
1900 —: Mit welchem Recht unterscheidet man geschlechtliche und ungeschlechtliche Fortpflanzung? Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Bd. 15 p. 142—153.
1900 —: Über physiologische Degeneration bei Protozoen. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Bd. 16 p. 88—94.
1902 —: Die Protozoen und die Zelltheorie. Arch. f. Protistenk. Bd. 1 p. 1—40.
1902 —: Über Wesen nnd Bedentung der Befrnchtung. Sitz.-Ber. d. math.-phys. Kl. d. bayr. Akad. d. Wiss. Bd. 32 p. 57—73.
1903 —: Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedentung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biol. Centralbl. Bd. 33 p. 49—62.
1903 —: Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Bd. 18 p. 77—100.
1904 —: Über Konjngation von Dileptns gigas. Sitz.-Ber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. München Bd. 20 p. 1—3.
1904 —: Über physiologische Degeneration bei Actinosphaerium eichhorni. Denkschr. d. Med.-Nat. Ges. Jena Bd. 11 p. 301—354.
1905 —: Über das Problem der sexnellen Differenzierung. Verh. d. dentsch. zool. Ges. Bd. 15 p. 186—214.
1901 Hickson, S. J.: The reprodnction and life-history of the Protozoa. Trans. Manchester Micr. Soc. 1900 p. 25—31.
1902 [Hickson, S. J.] & Wadsworth, G. T.: Dendrocometes paradoxus. Part I. Conjngation. Qnart. J. Micr. Sci. Vol. 45 325—362. Sommario in J. R. Micr. Soc. 1902 p. 438.
1899 Hoyer, H.: Über das Verhalten der Kerne bei der Konjugation des Infnsors Colpidinm colpoda St. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 54 p. 95—134.
1884 Jickeli, C. F.: Über die Kernverhältnisse der Infusorien. Zool. Anz. Bd. 7 p. 468—473, 491—497.
1893 Johnson, H.: A contribntion to the morphology and biology of the Stentors. Jonrn. Morph. Vol. 8 p. 467—562.
1898 Joukowsky, D.: Beiträge znr Frage nach den Bedingungen der Vermehrung nnd des Eintrittes der Konjugation bei den Ciliaten. Verh. d. Nat.-Med. Ver. Heidelberg (2) Bd. 6 p. 17—42.
1895 Karawaiew, W.: Beobachtungen über die Strnktnr nnd Vermehrung von Aulacantha scolymantha. Zool. Anz. Bd. 18 p. 286—289, 293—301.
1896/97 Karsten, G.: Untersnchnngen über Diatomeen. Flora Bd. 82 p. 296, Bd. 85 p. 33—53, 203—222.
1901 Kasanzeff: Experimentelle Untersuchnngen über Paramaecium candatnm. Inaug.-Diss. Zürich. 60 p.
1895 Keuten, J.: Kernteilung von Englena viridis. Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 60 p. 215—235.
1900 Kulagin, N.: Znr Biologie der Infusorien. Physiol. Rnsse Vol. 1 p. 269—275.
1903 Loewenthal, W.: Beiträge zur Kenntnis des Basidiobolns lacertae. Arch. f. Protistenk. Bd. 2 p. 364—415.

1903 Loisel, G.: Snr la sénescence et sur la conjngaison des Protozoaires. Zool. Anz. Bd. 26 p. 484—495.

1886 Maupas, E.: Snr la conjngaison des Infusoires ciliés. C. R. Acad. sc. Paris Vol. 102 p. 1569—1572.

1886 —: Sur la conjngaison des Paramécies. Ibid. Vol. 103 p. 482—484.

1887 —: Snr la pnissance de multiplication des Infusoires ciliés. C. R. Acad. Sc. Vol. 104 p. 1006—1008.

1887 —: Sur la conjngaison dn Paramaecinm bnrsaria. Ibid. Vol. 105 p. 955—957.

1888 —: Sur la conjngaison des Vorticellides. Ibid. Vol. 106 p. 1607—1610.

1888 —: Snr la mnltiplication des Infusoires ciliés. Arch. zool. expér. (2) Vol. 6. p. 165—277.

1889 —: Le rajeunissement caryogamiqne chez les ciliés. Ibid. Vol. 7 p. 148—517.

1906 Mercier, L.: Phénomènes de sexnalité chez Myxobolns pfeifferi. C. R. Soc. Biol. Paris Vol. 60 p. 427—428.

1899 Nawaschin: Nene Beobachtnngen über Befruchtung bei Fritillaria und Lilium. Botan. Centralbl. Bd. 77.

1904 Pittaluga: Partenogenesi nei macrogameti di Laverania. A. Parasitol. Paris Vol. 7 p. 389—397.

1888 Plate, L.: Studien über Protozoen. Zool. Jahrb. Abt. f. Morphol. Bd. 3 p. 135—200.

1905 Prandtl, H.: Rednktion und Karyogamie bei Infusorien. Biol. Centralbl. Bd. 25 p. 144—151.

1906 —: Konjngation von Didinium nasntum. Arch f. Protistenk. Bd. 7 p. 229—258.

1904 Prowazek: Die Entwicklung von Herpetomonas. Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte Bd. 20 p. 440—452.

1905 —: Stndien über Sängetiertrypanosomen. Ibid. Bd. 22 p. 45.

1888 Rhumbler, L.: Die verschiedenen Cystenbildnngen nnd die Entwicklungsgeschichte der holotrichen Infusoriengattnng Colpoda. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 46 Bd. 549—601.

1903 —: Mechanische Erklärung der Ähnlichkeit zwischen magnetischen Kraftliniensystemen nnd Zellteilungsfiguren. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 16 p. 476—536.

1895 Rückert, J.: Über das Selbständigbleiben der väterlichen nnd mütterlichen Kernsubstanz während der ersten Entwicklnng des befruchteten Cyclopseies. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 45 p. 339—369.

1905 Russo, A. & S. Di Mauro: Frammentazione del macronncleo nel Cryptochilum echini e sua significazione per la senescenza degli Infusori. Boll. Accad. Gioen. Catania Fasc. 84 6 p.

1905 — —: Differenziazioni citoplasmiche nel Cryptochilnm echini (Maupas). Boll. Accad. Gioen. d. Sc. Nat. Catania Fasc. 84 5 p.

1905 — —: La coniugazione ed il ringiovanimento nel Cryptochilum echini. Ibid. Fasc. 85 6 p.

1904 Schaudinn, F.: Generations- nnd Wirtswechsel bei Trypanosoma nnd Spirochäte. Arb. aus d. kais. Gesundheitsamte Bd. 20 p. 387—439.

1905 —: Neuere Forschungen über die Befrnchtung bei Protozoen. Verh. d. dentsch. zool. Ges. p. 16—35.

1888 Schewiakoff, W.: Über karyokinetische Kernteilung der Euglypha alveolata. Morph. Jahrb. Bd. 13 p. 193—258.

1901 Simpson, J.: Observations on binary Fission in the life-history of Ciliata. Proc. R. Soc. Edinb. Vol. 23 p. 401—421.

1902 —: The relation of binary Fission and Conjngation to Variation. Rep. 71 Meet. Brit. Ass. Adv. Sc. p. 688—689.

1903 Smith, G.: Actinosphaerinm eichhorni. A hiometrical study in the mass relations of nucleus and cytoplasma. Biometrica Vol. 2 p. 241—254.

1903 Stevens, N. M.: Notes en Regeneration in Stentor coeruleus. Arch. Entwicklungsmech. Vol. 16 p. 461—475.

1905 Versluys, J.: Über die Konjugation der Infusorien. Biol. Centralbl. Bd. 26 p. 46—62.

1905 Vahlkampf, E.: Znr Biologie nnd Entwicklnngsgesch. von Amoeba limax ecc. Arch. Protistenk. Bd. 5 p. 167—220.

1901 Wallengren, H.: Zur Kenntnis der Nenbildungs- und Resorptionsvorgänge bei der Teilnng der hypotrichen Infusorien. Zool. Jahrh. Bd. 15 p. 1—58.

1905 Woodruff, L.: An experimental stndy on the life-history of hypotrichons infusoria. Jonrn. Exper. Zool. (Baltimore) Vol. 2 p. 585—632.

1905 —: Physiological and morphological changes during 860 generations of Oxytricha fallax. Science (2) Vol. 21 p. 270.

XIV. Siegazione delle Tavole.

Tutte le Figure, tolte da preparati di *Opercularia coarctata*, sono state disegnate alla camera lncida, con obbiettivi ad immersione. Quelle della tavola V, ridotte alla metà nella riproduzione dai disegni originali, hanno un ingrandimento di 750 diametri; sono tolte da preparati in toto, colorati con carmino horacico e verde metile, salvo indicazione in contrario; le Fig. 43—46 con fatte ad occhio dal vivo (ingrand. indeterminato). Nelle tavole VI—VIII tutte le figure son tolte da sezioni, ordinariamente grosse 5 micron, colorate coll' ematossilina ferrica, salvo indicazione in contrario. L' ingrandimento è di 2000 diametri.

Tavola V.

Fig. 1—2. Divisione sessnale.
Fig. 3. Inizio della coningazione.
Fig. 4—6. Prima divisione del mi. nel microgamete.
Fig. 7—17. Prima divisione di maturazione.
Fig. 18—22. Seconda divisione di maturazione.
Fig. 23—25. Ultima divisione.
Fig. 26—29. Spostamento dei nnclei e coningazione
Fig. 30—32. 1a divisione del nncleo di fecondazione.
Fig. 32—34. 2a divisione.
Fig. 35—39. Formazione dei nnovi macronnclei.
Fig. 40. Stadio eccezionale, con 7 Ma. e 1 mi.
Fig. 41—42. Spartizione dei Ma.
Fig. 43—46. Coniugazioni a fresco.
Fig. 2. Si notino i corpi interni (verdi) del Ma.
Fig. 4. Piastra eqnatoriale nel microg.
Fig. 5. Principio delle modificazioni nel macrogamete (Ma.).
Fig. 6. Seguito. Corpi interni allnngati, come nella divisione, cfr. Fig. 2. 2 mi. nel microg.

Fig. 7. Fuso primario nel mi. del macrog.; mi. del microg. non ancora modificati.

Fig. 8—9. Tolte della stessa Opercularia, con fuochi diversi. Fusi primari. Ma. del macrog. e microg., in spezzettamento.

Fig. 10. Stadio dell' allungamento del fuso primario, nel macrog.

Fig. 11. Stadio di poco più avanzato.

Fig. 12. Stadio del raccoglimento, dopo l' allungamento. Coniugazione doppia.

Fig. 13. Fuso secondario, di recente formato (fibre divergenti); l' altro mi. del microg. e quello del macrog. non son disegnati.

Fig. 14. Piastre equatoriali (i cromosomi son circa 16).

Fig. 15. Stadio più avanzato della divisione; i cromosomi son ancora numerosi in ciascun gruppo, ma son stati un poco diminuiti di numero nel disegno, per maggior chiarezza, dovendosi rappresentare su un piano quello che non è su un piano.

Fig. 16. Nuclei figli in formazione. I filamenti riunenti sono 8 nel mi. del macrog.

Fig. 17. Separazione dei nuclei.

Fig. 18. Stadio dell' allungamento (2a divisione di maturazione).

Fig. 19. Piastre equatoriali.

Fig. 20. Id., coniugazione doppia. I cromosomi son numerosi (16?) ma diminuiti nel disegno, cfr. spiegazione a Fig. 15.

Fig. 21. Separazione dei cromosomi nel microg.; son già separati nel macrogamete.

Fig. 22. 8 mi. nel microg., 4 nel macrog., tutti uguali.

Fig. 23. Coniugazione doppia. Fusi primari dell' ultima divisione.

Fig. 24. Fusi secondari dell' ultima divisione. Nel macrog. si contano con certezza 8 cromosomi.

Fig. 25. Fine dell' ultima divisione.

Fig. 26. I due nuclei derivatine in ciascun gamete, ancora ravvicinati.

Fig. 27. I nuclei allontanati e modificati.

Fig. 28. I due nuclei nell' atto dell' unione.

Fig. 29. I due nuclei già fusi.

Fig. 30. Fuso e piastra equatoriale, dopo la copulazione; difficile contare i cromosomi, che sono però assai più di 8.

Fig. 31. Fine di questa divisione.

Fig. 32. Opercularia con due nuclei identici.

Fig. 33. Divisione dei due nuclei.

Fig. 34. Opercularia con 4 nuclei identici.

Fig. 35. Accrescimento di tre nuclei frai quattro.

Fig. 36—37. Stadi ulteriori dello stesso accrescimento.

Fig. 38. Allungamento dei nuclei ingrossati.

Fig. 39. Stadio ulteriore di questo allungamento.

Fig. 40. Forma eccezionale, con 8 nuclei, di cui 7 in via di ingrossare.

Fig. 41. Spartizione dei Ma., e fuso primario del mi.

Fig. 42. Resultato della prima spartizione dei Ma.

Fig. 43. Ingresso del microgamete nel macrog. (dal vivente).

Fig. 44. Altro individuo, con doppia coniugazione.

Fig. 45. Lo stesso. Stadio più avanzato.

Fig. 46. Lo stesso. Stadio dell' allungamento, con perfetto accordo frai tre gameti.

Tavola VI.

Fig. 47. Ma. normale (coloraz. con carmino boracico e verde metile le parti chiare sono in verde).

Fig. 48. Ma. al principio delle trasformazioni per la divisione. Coloraz. come sopra.

Fig. 49. Stadio più avanzato; anche il mi. modificato (fuso primario). Coloraz come sopra.

Fig. 50—52. Stadî della divisione sessuale.

Fig. 53. Principio delle modificazioni del mi. nel microg. in coniugazione.

Fig. 54. 2 mi. nel microg. e Ma. del macrog. che comincia a modificarsi.

Fig. 55. Principio della prima divisione di maturazione; mi. modificato specialmente nel macrog.

Fig. 56. Formazione del fuso primario.

Fig. 57. Altra sezione dello stesso individuo, per mostrare le modificazioni del Ma.

Fig. 58. Fuso primario.

Fig. 59. Altra sezione dello stesso individuo, per mostrare le modificazioni del Ma.

Fig. 60. Come sopra.

Fig. 61—62. Sezioni di uno stesso individuo, stadio del massimo allungamento.

Fig. 63. Mi. nel massimo allungamento, macrogamete.

Fig. 64. Uno stadio poco più avanzato. Nel microgamete vi è un solo micronucleo; l'altro è nella sezione vicina, cioè nella

Fig. 65.

Fig. 66—68. Progressivo aumento di cromaticità nei micronuclei allungati.

Fig. 69. Accorciamento dei mi.

Tavola VII.

Fig. 70. Id., in mi. nei quali non era aumentata la cromaticità.

Fig. 71. Accorciamento più avanzato.

Fig. 72. Accorciamento, con sfere opaline, probabilmente prodotte dai reagenti.

Fig. 73. Ritorno alla forma sferica.

Fig. 74. Principio del fuso secondario.

Fig. 75—77. Assestamento progressivo del reticolo nucleare per giungere alla formazione del fuso secondario.

Fig. 78. Fuso secondario quasi formato.

Fig. 79. Fuso secondario con piastra equatoriale.

Fig. 80. Allungamento del fuso secondario.

Fig. 81. Separazione dei cromosomi.

Fig. 82. Ricostituzione dei nuclei figli.

Fig. 83. Aspetto dei nuclei al momento del distacco.

Fig. 84—85. Stadî simili al precedente.

Fig. 86. Stadio poco più avanzato.

Fig. 87. Ricostituzione della struttura normale nei nuclei figli.

Fig. 88. Fuso primario della seconda divisione di maturazione (microgamete).

Fig. 89. Fusi secondari della stessa divisione, coniugazione doppia.

Fig. 90. 4 nuclei nel macrogamete (ed 8, non disegnati, nel microgamete).

Fig. 91. Come sopra; stadio poco posteriore.

Fig. 92. Modificazioni dei mi. che non vengono ntilizzati (microgamete).

Fig. 93. Stadio poco più avanzato; mi. che si prepara all' ultima divisione.

Fig. 94. Stadio simile a quello della fig. precedente, ma con aspetti un poco diversi.

Fig. 95. Fuso primario dell' ultima divisione (microg.).

Fig. 96. Fusi secondari.

Fig. 97. Spartizione dei cromosomi (circa 8 per ogni parte) (macrogamete).

Fig. 98. Fine dell' ultima divisione (microg.).

Fig. 99. Avvicinamento dei nuclei eterosessuali.

Fig. 100. Ulteriore avvicinamento, con rottura della membrana divisoria.

Fig. 101. 2 nuclei, dopo la copulazione.

Fig. 102. 2 nuclei, allo stadio di fuso primario.

Fig. 103. Id., allo stadio di fuso secondario; spartizione di cromosomi, in uno dei due. Il loro numero è stato leggermente diminuito, per maggior chiarezza del disegno.

Fig. 104. Fine di questa seconda divisione.

Fig. 105—106. Modificazioni dei nuclei destinati a diventare Ma.

Tavola VIII.

Fig. 107—110. Modificazioni dei nuclei destinati a diventare Ma.

Fig. 111—117. Id., ma con maggiore sviluppo di sostanza cromatica.

Fig. 118. Spartizione dei Ma.

Fig. 119. Una Opercularia dopo la spartizione dei Ma.

(Ans dem Zool. Institut der Universität Marburg.)

Über die Entwicklung und Fortpflanzung von *Echinomera hispida* (A. Schn.)

Von
C. Schellack.

(Hierzu Tafel IX—XI und 3 Textfiguren.)

Im Jahre 1902 stellten Léger nnd Duboscq in einer eingehenden Arbeit über die Ontogenie der hauptsächlichsten Gregariniden-Familien auch die der Dactylophoriden an der Gattung *Pterocephalus* fest, nnd skizzierten dann in zwei kürzeren Aufsätzen 1902 nnd 1903 die Grundzüge der Fortpflanzung bei den Vertretern dieser Gattung. Es mnßte zweifelhaft bleiben, inwieweit ihre Resultate für die ganze Familie charakteristisch sind, wenn anch die Verwandtschaftsverhältnisse der bis jetzt bekannten fünf Gattnngen mit acht Arten (sämtlich in Chilopoden gefunden) nicht allzn weite sind. Da es wünschenswert erscheint, die Entwicklung nnd geschlechtliche Fortpflanzung der Gregarinen in größerem Umfange festzustellen, als dies bisher geschehen war, und da anch eine ganze Reihe nicht unwichtiger einzelner Züge noch eingehender zu erforschen war, so machte ich es mir zur Anfgabe, an der Gattung *Echinomera* die bisher nnr bei *Pterocephalus* in einzelnen Arbeiten verfolgten Verhältnisse zusammenfassend zu studieren. Außer ihr wäre von Dactylophoriden nur noch *Dactylophora* in Betracht gekommen, die aber in hiesiger Gegend seltener zu finden ist. *Echinomera hispida* wurde im Darmkanal von *Lithobius forficatus* L. 1875 von Aimé Schneider entdeckt nnd als *Echinocephalus* beschrieben — von Labbé in obiger

Weise benannt, da der alte Name einem Nematoden zukommt —. Spezielle Arbeiten über die Form sind nicht vorhanden, nur Crawley benuzte sie 1902 bei seinen Studien über die Bewegung der Gregarinen, und ebensowenig behandelt ist die zweite Art der Gattung, *E. horrida* (Léger), die 1899 von L. Léger in *Lithobius calcaratus* aufgefunden wurde, aber sicher näher an *Pterocephalus* zu stellen ist als *hispida*. Über die anderen Vertreter der Familie sind ebenfalls nur die Gattungs- und Art-Charakteristika und einzelne morphologische Befunde an Cysten und Sporen vorhanden.

Material und Methode der Untersuchung.

Das Material, das ich zu meinen Untersuchungen nötig hatte, stand mir aus den Wäldern in der Umgebung Marburgs in reichlichem Maße zur Verfügung. Beim Sammeln der Tiere konnte ich eine biologische Eigentümlichkeit, die bereits dem Entdecker der *Echinomera* aufgefallen war, oft bestätigen: unter den Gregarinen hat noch eine zweite Form, *Actinocephalus dujardini*, ihren Wohnsitz im Darm des *Lithobius*, und man bemerkt bald, wie scharf die beiden Formen auf einem sehr engen Verbreitungsgebiet, manchmal nur etwa zwei Quadratkilometern, sich gegenseitig ausschließen; dabei bevorzugt *Echinomera* ganz offenbar die waldigen Gegenden, während ich *Actinocephalus* nie außer in Gärten und Anpflanzungen gefunden habe; wenn Ausnahmen vorkamen, so bestanden sie immer nur darin, daß *Echinomera* in das Gebiet des *Actinocephalus* eingedrungen war, nie umgekehrt, und dann kann es auch in einigen sehr seltenen Fällen vorkommen, daß beide zugleich denselben Darm bewohnen, *Echinomera* aber in weit geringerer Anzahl. Was das Vorkommen in den verschiedenen Jahreszeiten anbetrifft, so war zu bemerken, daß die Gregarine in ihren Wirtstieren überwintert, wie man auch *Gregarina ovata* (L. Dufour) mitten im Winter in einzelnen Riesenexemplaren in den wenigen am Leben bleibenden *Forficula* finden kann: im Dezember oder Januar eingebrachte Lithobien beginnen meist nach einigen Wochen mit einer sehr reichlichen Cystenentleerung.

Die Pflege der Tiere und die Aufzucht der Cysten bot mir im Anfang einige Schwierigkeiten, bis ich auf dieselbe Methode kam, die Schaudinn bei seinen Studien über das *Coccidium schubergi* (1900) anwandte. Große Glaßgefäße wurden so gut wie möglich desinfiziert und am Boden mit dicken Lagen von ebenfalls desin-

fiziertem Fließpapier belegt, darüber zum Teil mit losen feuchten Ballen davon angefüllt. So konnten die Cysten in den ansgeschiedenen Kotballen mit Leichtigkeit gefunden werden nnd jegliche Pilzbildung, die die Cysten sehr bald nnd bei starker Überhandnahme auch die Wirtstiere tötet, durch ständiges Entfernen der oberen Lagen des Papiers vermieden werden. In ähnlichen kleineren Gefäßen wnrden auch die Cysten zur Reifnng gebracht — in beiden Fällen ist aber die erste Bedingung ständiges Fenchthalten des Papiers. Will man die reifen Sporen sammeln, so mnß man nach etwa fünf Tagen die Wände der kleinen Gefäße absuchen, an die die kleinen schwarzen Sporenballen mit großer Vehemenz angeschleudert und angeklebt werden. Gefüttert wurden die Lithobien mit klein zerschnittenen Mehlwürmern, nnd auch die künstliche Infektion wurde in der Weise ausgeführt, daß die Sporenballen auf sie aufgetragen nnd dann den Lithobien vorgehalten wnrden, bis man sich überzeugt hatte, daß sie gefressen waren.

Die Konservierungsmethoden boten ungleich größere Schwierigkeiten infolge der starken Cystenhüllen, die so undnrchlässig sind, nm nur ein Beispiel zn erörtern, daß die Cysten nach der Konservierung nnd Überführung in Alcohol absolntns hierin einfach völlig austrocknen, ohne daß der Alkohol eindringt nnd es danach wochenlang danert, ehe Xylol und Paraffin eindringen. Allein diese Hüllen sind es, die in der Gregarinenliteratur so viele Irrtümer haben aufkommen lassen: typisch für ihre Wirkungen sind Zeichnnngen von Cecconi (Arch. d'Anat. micr. Vol. V. Taf. V, 6, 8) und die bekannten Figuren von Wolters, wie man sie für andere Formen durch Konservieren mit der Cystenhülle leicht künstlich herstellen kann. Es blieb mir nach langen vergeblichen Versuchen nichts anderes übrig, als die Hüllen mit feinen Nadeln zu entfernen, was nach einiger Übung auch recht gnt gelingt, vor allem wenn die Cysten nicht zn feucht gehalten werden: dann genügt meist ein leiser Druck sie zu sprengen, und man kann die völlig nnverletzten Tiere sofort in die Konservierungsflüssigkeit bringen. Recht gnte Erfolge erzielte ich für die Mitosen, speziell die Sphären und Centrosome, der jüngeren Tochterkerne mit der neuerdings von Duboscq und Brasil (1895) angegebenen Flüssigkeit:

Pikrinsäure 1 g.
Essigsäure 10 ccm.
Formol (wässerige Handelslösung) 50 ccm.
Alkohol 75 % 150 ccm.

Die Därme mit den Sporozoiten und reifen Gregarinen wnrden etwa eine Minute lang in starker Flemmingscher Lösung konserviert. Die Färbnng wnrde ausgeführt mit Heidenhain'schem Hämatoxylin nnd Nachfärbung mit Bordeauxrot, das in geringen Spuren in dem differenzierenden Eisenalann gelöst war, oder Eosin.

I. Die Darmgregarinen.

1. Sporozoiten-Entwicklung.

Die Ontogenie der polycystiden Darmgregarinen, soweit sie nach den Untersnchungen Léger's und Duboscq's bisher bekannt ist, weist für die Protozoen insofern äußerst bemerkenswerte Verhältnisse anf, als sich hier allem Anschein nach in der Entwicklnng des Individuums eine Wiederholnng der Stammesgeschichte zeigt.

Im allgemeinen läßt sich diese Regel aufstellen, daß ein völliges Eindringen der Sporozoiten der polycystiden Darmgregarinen nicht stattfindet — wenn man von einer Ausnahme in *Gregarina ovata* (Pähler 1904) absieht — vielmehr immer nur eine Einsenkung bis höchstens zur Körpermitte erfolgt: und speziell lassen sich zunächst zwei primitivere Gruppen nnterscheiden, soweit Feststellungen der Ontogenie der Gregarinen bisher überhaupt erfolgt sind. Es handelt sich um die Entstehnng des Epimerits und sie verläuft bei der Gattung *Pyxinia* in der Weise, daß sich das eingedrungene Ende des Sporozoiten durch einfaches Längenwachstum zum definitiven Epimerit ausbildet. Der Protomerit wird wie auch bei allen anderen Arten durch Entstehung eines ektoplasmatischen Septnms in dem anßerhalb der Darmzelle liegenden Teile der Gregarine gebildet. Die zweite Grnppe, durch die Gattnng *Gregarina* dargestellt, läßt aus dem eingedrungenen Teile des fast kugelförmigen Sporozoiten ein Knöpfchen hervorgehen, das ebenfalls durch Wachstnm znm definitiven Epimerit wird. Es scheint nun fast so, als ob es möglich wäre, auf diese beiden Typen die Mehrzahl der vorhandenen Epimeritformen zurückznführen: jedenfalls hat man einerseits bei sehr vielen vermocht, freilich nur auf Grund rein morphologischer Betrachtungen, ohne die Ontogenie zum Beweise heranznziehen, die Epimeritform von dem Knöpfchen der Gattung *Gregarina* abzuleiten. Andererseits aber — und das ist das Bemerkenswerte — treten die erwähnten Grundtypen transitorisch auch in der Ontogenie verschiedener Formen

anf: bei *Stylorhynchus* wird das knöpfchenförmige Epimerit der Gattung *Gregarina* gebildet, dann völlig resorbiert nnd ein ganz anders gestaltetes sekundäres Epimerit angelegt, bei *Pterocephalus* als primäres Epimerit der geschlängelte intracelluläre Faden der *Pyxinia*.

Da Léger nnd Duboscq durch die Untersuchnng der Ontogenie dieser letzteren Gattung *Pterocephalus* den allgemeinen Typns für die Dactylophoriden festgelegt zn haben glanben, meine Untersuchnngen an *Echinomera hispida* ihn aber einigermaßen modifizieren, möchte ich anf die Entwicklnng des *Pterocephalus* etwas näher eingehen: der ungefähr 10—11 μ lange Sporozoit dringt bis zur Hälfte in eine Darmepithelzelle einer *Scolopendra cingulata* Newp. ein, der anßerhalb liegende Teil verdickt sich, der innere behält seine fadenförmige Gestalt bei und schlängelt sich etwas, wodnrch er die größte Ähnlichkeit mit dem definitiven Epimerit der *Pyximia* erhält; dann aber wird er völlig reduziert, nnd gleichzeitig legt sich die Gregarine selbst in einer höchst eigentümlichen Weise seitwärts nm, bis sie dem Darmepithel mit einem beträchtlichen Teil ihrer Körperoberfläche angeschmiegt ist; aus ihm sprießt nach nnten der Haftapparat hervor, aus langen bis an den Grnnd der Zelle reichenden Filamenten bestehend, nnd nach oben hin bildet sich das Protomerit.

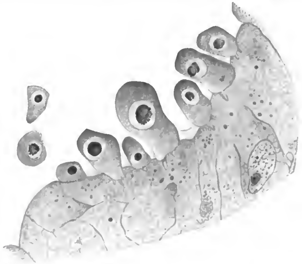
Bei *Echinomera hispida* mußte ich mich znnächst vergewissern, daß ich nicht durch ähnliche Stadien anderer Parasiten getäuscht wurde, und es gibt deren bei *Lithobius forficatus*, der allein verwandt wurde, nicht wenige: von Gregariniden[1]) noch *Actinocephalus dujardini*, aber wie erwähnt, schließen diese Formen sich aus, und es bietet keine Schwierigkeiten, Wirtstiere nnr von *Echinomera* zu erhalten. Nach A. Lalbé (Tierreich 1899) sind die anderen vorkommenden Parasiten Coccidien; in hiesiger Gegend im ganzen drei Arten: *Adelea ovata*, *Coccidium schubergi* und *Coccidium lacazei*, und alle drei können in einem Darm vorkommen. Gegen Irrtümer, die diese Tiere hervorrufen könnten, vermag man sich einmal dadurch zu schützen, daß man nach Schaudinn's Angaben (1900) die Versuchstiere von der Coccidiose heilt — das wnrde ausgeführt und ist vorteilhaft, weil man dadurch bei ihnen ein normales Darmepithel erhält, das sonst immer mehr oder weniger stark von den Coccidien angegriffen wird. Nötig ist es nicht, denn andererseits sind die Sporozoitenstadien dieser Formen an ihrer Größe zu erkennen, die

[1]) Erwähnen möchte ich, daß ich einmal das Coelom eines *Lith. forf.* völlig angefüllt fand mit einer Monocystidee; Cysten und auch Stadien noch im Darmepithel waren vorhanden. Es ist mir aber wahrscheinlich, daß die Infektion durch Fressen eines Regenwurmhodens erfolgt ist.

je nach der Art 15—40 μ beträgt, während der Sporozoit von *Echinomera* nur 4,3—4,5 μ lang ist, außerdem den Kern nicht in der Mitte des Körpers besitzt, wie alle Coccidien, sondern am distalen Pol. Die Merozoiten kommen ebensowenig in Betracht.

Gehen wir von den Stadien aus, die sich nach dem Verlassen der Sporocyste frei im Darmlumen bewegen, so kann man an ihnen ohne weiteres das vordere von dem hinteren Körperende unterscheiden; Fig. 1a zeigt einen solchen freien Sporozoiten eine Stunde nach der Infektion. Der Kern liegt an dem hinteren mehr verdickten Pol des spindelförmigen, wenig langgestreckten Tieres, der vordere Pol ist ausgezeichnet durch das auch bei allen anderen Formen vorhandene Rostrum, das ist eine Zuspitzung des helleren und dichteren Plasmas an dieser Stelle. Mit ihm dringt der Sporozoit durchschnittlich bereits in der zweiten Stunde nach der Aufnahme in den Darm zwischen den Stäbchensaum der einzelnen Zellen ein und setzt sich fest. Die erste Abweichung von dem Verfahren des *Pterocephalus* ist dann die, daß sich das Rostrum nur ganz wenig in das Plasma der Zelle einbohrt; auf manchen bis zu fünfzehn Stunden alten Stadien sieht man auch das kaum — ein Irrtum wäre wegen der Kleinheit der Verhältnisse und der vielen Faltungen des Plasmas der Darmzelle leicht möglich, aber man kann sich durch Messungen überzeugen, daß das Tier immer in seiner normalen Länge und später darüber hinaus aus dem Epithel hervorragt. Und von einem Wachstumsprozeß in die Zelle hinein ist bisher bei keiner Form die Rede gewesen. Das sogenannte „transitorische Epimerit" tritt hier also überhaupt nicht mehr auf, sondern das Tier schreitet gleich zur Bildung des sekundären Haftapparates. Dieser Vorgang ist prinzipiell von dem des *Pterocephalus* nicht unterschieden, auch hier werden die Seitenwände des Körpers des Sporozoiten dazu benutzt, aber in ganz anderer Weise herangezogen: die Achse legt sich nicht um, sondern bleibt senkrecht zum Epithel stehen, und der Sporozoit fließt gewissermaßen an ihr herab unter bedeutender Zunahme der Breite und geringerer der Länge, die durch das Wachstum ersetzt wird (Fig. 2, 3, 4, 5). Auch das kleine eingedrungene Spitzchen wird nun deutlicher sichtbar, da es ebenfalls verbreitert wird und auch weiter hineingerät. Nach etwa 109 Stunden war bei meinen Infektionsversuchen das Stadium beendet und nun sproßt (Fig. 6, 7) der Haftapparat selbst hervor. Zuerst zeigt sich (Fig. 6) eine etwas hervortretende Ansammlung helleren und dichteren Plasmas, die immer weiter hervorwächst, sich auch an andern Stellen wiederholt, bis die Fortsätze schließlich eine etwa fingerfömige Gestalt ange-

nommen haben. (Fig. 8 und Textfigur 1, die zugleich ein Bild von der Stärke mancher Infektionen geben soll.) Sie vermögen an verschiedenen Stellen ins Plasma einzudringen, auch zwischen die Zellgrenzen, und ihre Zahl kann sich bei weiterem Wachstum über die eine Zelle hinaus noch beliebig vergrößern: so findet man bei älteren Exemplaren oft an die zwanzig bis dreißig. Über den feineren Bau wäre zu bemerken, daß ihre Wand, vor allem an der Basis, sicher aus einer besonderen konsistenteren Substanz besteht, wie sich aus der Färbung ergibt und aus Schrumpfungen, denen sie bei Anwendung von anderen als Osmium-Gemischen leicht ausgesetzt sind. Es



Textfig. 1. Darmepithel von Lithobius forficatus mit jungen Echinomera hispida. (Künstliche Infektion.)

folgt die Bildung des Protomerits, die etwa nach drei Wochen überall vollendet ist (Fig. 9). Sie äußert sich zunächst darin, daß die gröberen Körnelungen des Plasmas im vorderen Teile der Gregarine verschwinden, so daß es dort heller und dichter wird; dann beginnt von den Seiten her eine Einschnürung, der im Inneren die Ausbildung eines Septums parallel läuft, dem Anschein nach über die ganze Fläche hin gleichzeitig entstehend. Damit hat die Gregarine bei einer Größe von etwa 20 μ in dem ziemlich langen Zeitraum von etwa 3 Wochen alle ihre Organe fertiggestellt und es erfolgt nur noch ein bedeutendes Größenwachstum. Die reife Gregarine erreicht eine Länge von etwa 60—80 μ und darüber.

Bei dieser Darstellnng habe ich das Verhalten des Kernes gar nicht berücksichtigt, nnd doch hat auch er ohne Zweifel in gewissem Sinne Teil an der geschilderten Entwicklnng: das scheinen wenigstens die bemerkenswerten Wandernngen, denen er sich gleichzeitig unterzieht, zu beweisen. Bei *Pterocephalus* sind sie nicht nachgewiesen, dagegen in hervorragender Weise bei den Gattungen *Gregarina* und *Stylorhynchus*; der Kern verläßt seine ursprüngliche Lage beim Beginn der Entwicklung, nm znerst ganz in den vorderen Pol der Sporozoiten zn rücken: während er dann gewissermaßen in zwei Etappen zurückkehrt, wird jedesmal knrz nach dem Verlassen des betreffenden Körperteils das dahin gehörige Organ gebildet: liegt er wieder am distalen Pol, so ist Epimerit, Protomerit nnd Dentomerit fertig. In ganz ähnlicher Weise, wenn auch nicht so ausgeprägtem Maße, ist anch bei *Echinomera* der Kern an der Differenzierung der betreffenden Körperabschnitte beteiligt.

Es wurde bereits erwähnt, daß der Kern im Sporozoiten von *Echinomera* ganz am distalen Pol liegt: das ist nach den neueren Forschnngen für alle polycystiden Darmgregarinen als ein recht charakteristisches Merkmal anzusehen, denn es hat sich bisher nur eine einzige Ausnahme davon gefunden in *Stylorhynchus longicollis*. Er bleibt bei nnserer Form dort ziemlich lange liegen, entsprechend der späten Ausbildung des Epimerits: erst am Beginn der zweiten Woche (Fig. 5, Sporozoit im Alter von 185 Stunden) sieht man, wie der Kern plötzlich seine Gestalt und Lage verändert. Ich konnte häufiger beobachten, wie zunächst eine pseudopodienartige Ausstülpnng nach der Anheftungsstelle des Sporozoiten zu erfolgt, worauf dann die Wanderung aus dem distalen Pol heraus vor sich geht — gleichzeitig mit dem Erscheinen der ersten Anlagen des Epimerits. Ist er ganz fertig, so findet man den Kern auch wieder anf der Rückwandernng begriffen (Fig. 8). Und noch ein zweites Mal tritt er die Wanderung nach unten an, wie Fig. 9 deutlich zeigt, bis zur Einschnürnng des Gregarinenkörpers, die die Ausbildnng des Protomeritseptums im Inneren andeutet. Im ganzen späteren Leben des Tieres hat er seine beständige Lage ungefähr in der Mitte des Dentomerits.

2. Entstehung des Karyosoms.

Für das Studium der inneren Struktnr des Sporozoitenkernes ist *Echinomera* trotz der Kleinheit einigermaßen günstig: wenigstens zeigt er nicht, wie das die meisten der von Léger nnd Duboscq untersuchten Sporozoiten tun, im ersten Stadium eine völlig kompakte

und undurchsichtige Lagerung des Chromatins; bei diesen Formen soll die Bildung der normalen Kernform in der Weise erfolgen, daß die chromatische Substanz sich znnächst in zwei Kalotten an die Kernpole lagert, wobei anch das nach Ansicht jener Forscher vorher verdeckte Karyosom hervortritt. Dann erst nimmt das Chromatin die typische wandständige Lagerung an. In solch scharf ausgesprochener Weise zeigen das aber die Figuren der Antoren nicht, vielmehr nähern oder entfernen sie sich mehr oder weniger dem beschriebenen Typns — ich möchte speziell auf *Stylorhynchus* hinweisen. Wesentlich ist jedenfalls die Annahme, daß das Karyosom präformiert sei, der als die erste eine Beobachtung Berndts (1902) bei *Gregarina cuneata* entgegensteht.

Bei *Echinomera* zeigt der Kern der Sporozoiten von Anfang an eine wandständige Lagernng des Chromatins, so daß man sein Inneres deutlich übersehen kann, und es ist nichts von einer ursprünglichen Anwesenheit des Karyosoms zn erkennen (Fig. 1). Vielmehr verläuft seine Entstehung in folgender Weise: im Anfang sieht man an einer beliebigen Stelle des wandständigen Chromatins eine kleine Verdickung auftreten (Fig. 1, 2), der sich vom Innern des Kernes aus ein winziges, aber dentlich erkennbares helles Bläschen anlegt. In dies hinein wandert das Chromatin der Verdickung in einzelnen Bröckchen, bis es schließlich ganz kompakt und intensiv schwarz färbbar geworden ist; dann verläßt es die seitliche Lage und rückt in die Mitte des Kernes (Fig. 4, 5). Es liegen nur wenige Beobachtungen vor, die sich mit dieser Methode der Karyosomentstehung vergleichen ließen, und das sind die vereinzelten Untersuchnngen an Sporozoiten der Coccidien, die in der Regel, solange sie frei sind, kein Karyosom besitzen; nach Schaudinn (1900) soll der Vorgang in den Sporozoiten von *Coccidium schubergi* in der Weise erfolgen, daß ebenfalls, aber central, ein helles Bläschen auftritt, in das das Chromatin dann einwandert — ähnlich wie bei *Cyclospora caryolytica* nach Siedlecki. Dann bemerkte neuerdings Th. Moroff (1906) einen analogen Vorgang in den Merozoiten von *Adelea zonula*, allerdings im Plasma, aus dem das Karyosom nachher in den Kern wandert.[1])

Wesentlich und von Bedeutung ist jedenfalls die Tatsache, daß das Karyosom nach obigen Beobachtungen ans typischem Chroma-

[1]) Eine wesentliche Bestätigung meines Befundes scheint dagegen in der Entstehung des Karyosoms bei den zu Geschlechtstieren heranreifenden Schizonten von *Aggregata* (nach einer jetzt erschienenen vorläufigen Mitteilung Th. Moroff's) zu finden zu sein: sie verläuft fast genau in derselben Weise wie bei *Echinomera*.

tin entstehen kann; die Substanz des hellen Bläschens wird Linin oder Plastin sein.

Über das weitere Verhalten des Kernes wäre zu bemerken, daß das Chromatin außerhalb des Karyosoms immer mehr verschwindet (Fig. 7), letzteres dagegen an Größe ständig zunimmt, so daß Léger und Duboscq mit ihrer Ansicht recht zn haben scheinen, daß schließlich das gesamte Chromatin des Kernes vom Karyosom anfgenommen würde. Das Kernnetz wird seknndär gebildet, indem nachher das Karyosom rückläufig einen Teil des Chromatins wieder abgibt; es ist aber trotzdem auf den meisten Stadien in seine unmittelbare Nähe gelagert (Fig. 8, 9, 10, 13, 17, 18).

3. Vermehrung der Karyosome.

Eine noch nicht entschiedene Streitfrage ist die Vermehrung des Karyosoms, da es bei vielen Gregarinen, auch *Echinomera*, in ziemlich großer Zahl auftreten kann. Bei *Stylorhynchus* sprechen die französischen Forscher von einer Entstehung durch Knospung und darauf folgenden Abschnürnng, einer Ansicht, der ich mich für *Echinomera* nicht anschließen kann, vielmehr sieht man oft (Fig. 11, 13), wie im Innern des großen Einzelkaryosoms die helle Grundsnbstanz wieder mehr hervortritt, das vorhandene Chromatin sich zn Kngeln znsammenballt nnd schließlich austritt, wobei der farblose Restkörper mehr oder weniger vom Chromatin befreit zurückbleibt (Fig. 13). Die so entstandenen Karyosome selbst können sich dann wieder in ähnlicher Weise verhalten (Fig. 9), wodurch ihre Zahl manchmal ziemlich groß wird. Überhaupt mnß man sagen, daß das Gesamtbild des Kernes in dieser vegetativen Periode in hervorragender Weise durch das Karyosom beherrscht wird, und es ist außerordentlich wechselnd je nach dem Ernährungszustand der Lithobien selbst, von dem es in bedeutender Weise abzuhängen scheint. Die beschriebene Methode der Karyosomvermehrung entspricht am meisten noch der von W. S. Marshall (1892) bei *Gregarina blattarum* vermuteten.[1])

5. Plasmaeinschlüsse.

Hinweisen möchte ich noch auf die verschiedenartigen chromatoiden Einschlüsse des Plasmas. Sie sind auch bei anderen Grega-

[1]) Ausstoßnngen von kugelförmigen Körpern aus dem alten Karyosom, das dabei vakuolisiert wird, aber immer noch durch seine Größe hervorragt, sind von Léger u. Duboscq auch bei *Pterocephalus* beschrieben, aber die Abkömmlinge werden nicht als Karyosome bezeichnet. Ähnliches ist jetzt von Th. Moroff für die *Aggregaten* vorläufig mitgeteilt.

rinen nicht selten, z. B. *Stenophora*, *Didymophyes gigantea*, *Stylorhynchus* und anderen; *Gregarina maculata* (Léger) aus den Larven von *Olocrates gibbus* hat hinter dem Kern im Endabschnitt ihres Körpers konstant eine chromatoide Kugel liegen, die ihrer Größe nach einen zweiten Kern vortäuscht und der Form den Namen gegeben hat. Schon in den Sporozoiten ist etwas Ähnliches nachgewiesen; bei den meisten von Léger und Duboscq untersuchten Formen liegt, hier vor dem Kern, ein „Centrosom", wie die Autoren es nennen. Es verschwindet freilich nachher unter der Menge anderer chromatischer Körnchen, wäre es aber ein Centrosoma, so müßte es auf einem bestimmten Stadium in den Kern hineinrücken, wie aus den Vorgängen bei der ersten Mitose zn ersehen sein wird. Diese „Centrosome" sind bei den Sporozoiten von *Echinomera* nicht nachzuweisen, wohl aber tritt unter anderem ein Gebilde auf, das die größte Ähnlichkeit mit der bei *Gregarina maculata* beschriebenen Kugel hat, aber etwas kleiner ist. Man sieht es zuerst auf Stadien, die etwa zwei Wochen alt sind (Fig. 8); es ist in der Regel in der Einzahl zu finden, aber konstant vorhanden, und liegt im Anfang neben dem Kern, nachher immer hinter ihm (Fig. 8, 9, 10, 17, 18), von einem hellen Plasmahof umgeben. Veränderungen sind an ihm insofern wahrzunehmen, als manchmal die gesamte chromatoide Substanz sich aus ihnen heraus begeben hat, aber in flüssig gelöstem Zustande, so daß es in der Umgebnng nicht mehr nachweisbar ist (Fig. 18). In seltenen Fällen ist es in der Mehrzahl vorhanden, wie in Fig. 11 dargestellt, wo auch die Vakuolen ohne die dnnkel färbbare Substanz eine bemerkbare Größe erreicht haben. Léger hält die Kngeln für Ausscheidungen des Kernes, nicht für Chromidien, ohne aber seine Ansicht zu begründen — vielleicht sind sie es dennoch, möglicherweise Sammelstellen für vegetative Chromidien: denn in den Fällen, wo ich sie nicht fand, war das ganze Plasma der Gregarine mit echten Chromidien fast überladen (Fig. 16). Man trifft solche Bilder oft und sie scheinen in engem Zusammenhang mit den Ernährungsverhältnissen des Wirtes zu stehen.

Im Protomerit ist ähnliches festzustellen. Bei *Pterocephalus* sprechen Léger und Duboscq direkt von einem „noyau protoméritique", der bei dieser Form konstant bis in die Cyste hinein vorkommt. Das ist bei *Echinomera* nicht der Fall, aber ständig kann man bei ihr im Protomerit eine chromatoide Wolke finden, die meist in ihrem Inneren ähnliche Vakuolen erkennen läßt, wie sie im Deutomerit vorkommen (Fig. 10, 11). Sie versorgt offenbar auch die fingerförmigen Fortsätze des Haftorgans, in denen regelmäßig eine mit

Eisen-Hämatoxylin stark färbbare Körnelung auftritt (Fig. 10, 11). Aufschluß über die eigentliche Bedeutung all dieser Substanzen könnten vielleicht Versuche mit verschiedener Ernährung der Wirtstiere geben, wozu die Lithobien sehr geeignet wären, da sie leicht wochenlange Hungerperioden zu überstehen vermögen.

6. Bewegung der Gregarine.

Es ist im Anfang bereits erwähnt, daß Crawley (1902) bei seinen Versuchen über die Bewegungsursachen der Gregarinen neben *Stenophora juli* auch *Echinomera* benutzte. Seine Beobachtungen widersprechen der bekannten Erklärungsweise Schewiakoff's (1894), werden aber von Lühe in dessen zusammenfassendem Bericht (1904) für bedeutend plausibler als Schewiakoff's Theorie gehalten. Crawley sah ebensowenig bei *Stenophora* wie bei *Echinomera* die ausgeschiedenen Gallertfäden, sondern nur unregelmäßige aus Tröpfchen bestehende Komplexe. Das konnte ich bei *Echinomera* bestätigen, und die ausgeschiedene Gallerte muß ebenso wie bei *Stenophora* stark elastisch sein, da man oft sieht, wie sie mit anhängenden Körnchen zum Hinterende der Gregarine zurückschnellt. Crawley baut seine Bewegungstheorie auf beobachteten sehr kleinen seitlichen pendelnden Bewegungen des Vorderendes und Kontraktionen der Myoneme auf: es ist nach ihm ein aktives Vorwärtsschieben mittels eines auf die Unterlage nach rückwärts wirkenden Druckes der Myoneme.

Vielleicht äußert sich die beobachtete kontrahierende Tätigkeit der Myoneme in einer schnellen Wellenbewegung der Epicytstreifen, die bei *Echinomera* wie bei anderen Formen ausgebildet (Fig. 15), aber im Leben nicht zu sehen sind; zum Beweise führe ich einmal an, daß ich diese Wellenfigur auf flach getroffenen Längsschnitten manchmal beobachten konnte, vor allem aber, da diese Figuren eventuell Wirkungen der Konservierung sein könnten, folgende Tatsache. Verfolgt man die Bewegung des Tieres längere Zeit bei Ölimmersion, so sieht man, wie Körnchen der umgebenden Flüssigkeit, die durch die ausgeschiedene Gallerte hindurch ganz dicht bis an das Epicyt geraten sind, mit einer großen Geschwindigkeit an ihm bis zum Hinterende heruntergleiten — die Geschwindigkeit ist jedenfalls bedeutend größer als die der Gregarine selbst. Das läßt mit Sicherheit auf Bewegungsvorgänge am Epicyt schließen und ich möchte eben annehmen, daß dies längs verlaufende (transversale oder auch longitudinale) Wellenzüge sind, die aber noch sicherer nachgewiesen werden müßten. Die Bewegung an der Unterseite des Schnecken-

fußes ist vielleicht nicht ganz unähnlich: die Schewiakoff'sche Erklärung berücksichtigt ja auch gar nicht, weshalb eigentlich die so stark entwickelten Myoneme vorhanden sind.

II. Die Fortpflanzungsperiode.

Erst die Forschungen der letzten Jahre haben bei den Gregariniden eine Tatsache ans Licht gefördert, die bei der verwandten Gruppe der Coccidiiden schon länger bekannt war, nämlich eine sexuelle Differenzierung in der Geschlechtsperiode, die so weit geht, daß sie sich nicht nur in einer Anisogamie bei der Befruchtung ausprägt, sondern in einzelnen Fällen auch in der vegetativen Periode schon auf Grund morphologischer Merkmale eine Unterscheidung von Männchen und Weibchen gestattet. Ende des Jahres 1904 hat Léger zum erstenmal zusammenfassend darauf hingewiesen und unterdes ist noch allerlei Neues dazu gekommen. Zunächst die Vorgänge bei der Befruchtung: während bei den Coccidiiden die Befruchtung ausschließlich anisogam ist, haben sich bei den Gregariniden alle Übergänge von der Isogamie bis zur höchsten Anisogamie ergeben, und zwar in eigentümlicher Weise über die Familien verteilt; bei den Monocystideen scheint im allgemeinen Isogamie zu herrschen, doch zeigen sich nach Brasil (1905) bei *Urospora lagidis* schon die ersten sicheren Andeutungen einer Verschiedenheit der Gameten, die bei den Pseudomonocystideen in *Schaudinnella* ziemlich weit geht. Bei den Polycystideen ist wiederum bei der niedrigsten Familie, den Gregariniden, Isogamie vorhanden, wenn auch nur zum Teil, denn bei einzelnen Formen behauptet Léger schon Anisogamie. Und wieder steigt die Verschiedenheit der Ausbildung der Gameten heran über die Stylorhynchiden zu ihrer höchsten Ausbildung in den Dactylophoriden.[1]) Auf die Formen der Gameten selbst werde ich später noch einzugehen haben.

Die Befunde, die nach Léger auf eine Sexualität der reifen Gregarinen hindeuten, scheinen in keinem rechten Zusammenhange mit den eben erwähnten Unterschieden zu stehen; gerade Formen,

[1]) Eine eigenartige Stellung scheint die digenetische Gattung *Aggregata* einzunehmen (nach einer vorläufigen Mitteilung von Th. Moroff 1907), deren Vertreter anisogam sind und ebenfalls während der geschlechtlichen Vermehrungsperiode starke sexuelle Differenzen aufweisen. Die Verhältnisse sind aber nicht mit Sicherheit zu beurteilen, ehe nicht die definitive Arbeit erscheint.

die eine typische Anisogamie aufweisen, wie *Stylorhynchus*, lassen in den freien Gregarinen gar keine Unterschiede erkennen, nnd die isogame *Monocystis ascidiae* läßt gleich von Anfang der sexuellen Entwicklung an ein verschiedenes Verhalten der Sporonten erkennen. Die Unterschiede bei dieser Form bestehen hauptsächlich in einer zu Beginn der Copulation erfolgenden Einsenkung des einen Tieres in das andere, das dann kappenförmige Gestalt annimmt; dasselbe ist bekannt von *Diplocystis clerci* und *Pterocephalus*. Unterschiede in den Darmgregarinen selbst, die eine sexuelle Differenzierung auf diesem Stadium schon erkennen lassen, sind bekannt von *Stenophora varians*, bei der sich kugelige nnd längliche Tiere unterscheiden lassen; bei *Aggregata vagans* ist der Primit stets größer als der Satellit, bei *Gregarina munieri* ist der Primit gelb gefärbt, der Satellit weniger, nnd bei *Pterocephalus* sind es mnskelartige Stränge nnter der Wand der vorderen Körperhälfte, die nach Léger das Männchen von dem Weibchen unterscheiden sollen. Das ist kurz das bisher Bekannte, und es ist hier zusammengefaßt worden, da der Entwicklungsgang von *Echinomera hispida* gerade wegen der hohen Ansbildung der sexnellen Differenzierung speziell in der Cystenperiode bemerkenswert ist, wie sich aber schon von vornherein nach der engen Verwandtschaft mit *Pterocephalus* erwarten ließ.

Sexuelle Unterschiede bei den Darmgregarinen von Echinomera.

Wenn die reifen Gregarinen ihr Epimerit resorbiert haben, kann man bei ihnen die äußere Form betreffende Unterschiede konstatieren, zwischen denen kontinuierliche Übergänge kaum aufzufinden sind, die auch nicht durch Veränderung der Gestalt auseinander hervorgehen. Die einen weisen eine ovoide Form auf, so etwa, daß der Durchmesser durch die Körpermitte etwa ein Drittel der ganzen Körperlänge beträgt, während die anderen ganz außerordentlich viel langgestreckter sind. Es ist mir nicht unwahrscheinlich, daß diese Unterschiede sexueller Natur sind — wie vorhin erwähnt, ist für *Stenophora varians* von Léger das gleiche vermutet.

Die Kopulationen je zweier Individnen, durch die die Fortpflanzungsperiode eingeleitet wird, gehen immer erst im untersten Abschnitt des Darmes vor sich, in der Weise, daß die Tiere sich mit den Protomeriten aneinander legen unter Abrundung ihres Körpers zu einer Halbkugel. Darin weichen sie von den meisten anderen Gregarinen ab, die sich bekanntlich mit entgegengesetzten Körperenden aneinander legen: an unsere Form schließen sich an *Pterocephalus*, die Stylorhynchiden und *Monocystis ascidiae*; auch bei

Actinocephalus dujardini konnte ich dasselbe beobachten. Sofort nach dem Abkugeln wird die äußere Cystenhülle ausgeschieden, die bei *Echinomera* nur von einer sehr dünnen Gallerthülle umgeben ist im Gegensatz zu den meisten anderen Gregarinen. Für *Pterocephalus* stellte Léger bereits auf diesem Stadium die ersten sicheren Unterschiede zwischen Männchen und Weibchen fest, die in muskelartigen Schnüren unter der Anheftungsfläche des Männchens an das Weibchen bestehen sollen: bei *Echinomera* sind sie nicht vorhanden, oder ich müßte sie in schwachen Verdichtungen unter der Cuticula suchen, die aber auch in dem anderen Sporonten der Cyste vorhanden sind. Dagegen ist die stärkere Färbbarkeit, die das Männchen von *Pterocephalus* auszeichnet, auch für *Echinomera* zu finden, und zwar um so stärker, je älter die Cyste wird. Nennenswerte Unterschiede in Struktur und Reservestoffeinschlüssen des Plasmas sind kaum festzustellen.

Die Vorgänge bei der ersten Mitose.

Sofort mit der Encystierung beginnen sich auch starke Kernveränderungen bemerklich zu machen: zunächst scheint der Kern im Verhältnis zum Körper der Gregarine beträchtlich an Größe zuzunehmen, wohl durch Aufnahme von Flüssigkeit (Fig. 20, 21), die größten Veränderungen aber gehen an den Karyosomen vor sich, die in Fig. (20, 21, 29, 30) veranschaulicht werden sollen. Das Chromatin, das in ihnen vorhanden ist, ballt sich zum Teil zusammen, und verläßt in kleinen Kugeln das Karyosom, ein Vorgang, der in Fig. 20 schon ziemlich weit fortgeschritten ist. Die Kugeln werden im Kernsaft immer kleiner und sind bald nicht mehr von dem Chromatin zu unterscheiden, das in sehr spärlichen Mengen bereits dort vorhanden war (Fig. 20). Ganz entleert werden die Karyosome aber in der Regel nicht, vielmehr sieht man immer noch einige wenige, die mit Heidenhain'schem Hämatoxylin ganz schwarz gefärbt werden, und in den meisten anderen haben sich die letzten Reste von Chromatin wandständig gelagert. In ihnen treten auch bereits Vakuolisierungen auf. Recht eigentümlich ist ihr weiteres Verhalten, das für *Echinomera* spezifisch zu sein scheint, denn ich konnte bei anderen Gregarinen nichts Analoges auffinden. Es sammeln sich nämlich die Restkörper der Karyosome sämtlich in einen einzigen großen, wobei es ganz den Anschein hat, als ob sie aus tropfbar flüssiger Substanz beständen, denn ganz in Form eines zähen Tropfens ziehen sie sich beim Hinübertreten in den großen Restkörper in die Länge, um in ihn hineinzufließen (Fig. 21). Dabei tritt die Vakuoli-

sierung immer mehr hervor und erreicht schließlich einen so hohen Grad, daß der Restkörper nur noch aus Vakuolen zu bestehen scheint, die sich bedeutend heller färben als die Grundsubstanz; auch sieht man häufig in ihnen einige wenige kleine tiefschwarze Körnchen auftreten.

Das sind alles einleitende Prozesse für die erste Kernteilung, über die ich zunächst das bisher Bekannte angeben möchte: zu einem befriedigenden Resultat ist man trotz vieler Versuche bisher nicht gelangt, vor allem sind die Prophasen der Teilung innerhalb des großen Kernes selbst noch von keinem Forscher verfolgt. Die Gründe dafür erwähnt Léger in seiner Arbeit über *Stylorhynchus*, bei dem er in dieser Beziehung fast gar keine Resultate erzielt hat: die Cystenhülle, die gerade von dem Tiere ausgeschieden wird, hängt noch so fest mit dem Plasma zusammen, daß nur sehr wenige Versuche, sie anzustechen oder zu entfernen, ohne ein Zerplatzen der Cyste enden, und eine Konservierung mit der Hülle ist unmöglich, weil sie bereits jetzt für alle Flüssigkeiten fast undurchdringlich ist. Ein Ausweg, bei dem die Kerne aber sehr stark schrumpfen, ist die Konservierung durch Hitze, also heiße Flüssigkeiten, und Anstechen vor dem Einbetten.

Die bisherigen Ergebnisse[1]) lassen sich dahin zusammenfassen, daß Cuénot (1901) von *Monocystis* und *Dyplocystis*, Prowazek (1902) ebenfalls von *Monocystis*-Arten, und Mrázek (1899) von einer Gregarine aus *Rhynchelmis* übereinstimmend berichten, daß die erste Mitose ausgeht von einem kleinen hellen Bläschen mit chromatischem Inhalt, — dem Micronuklens Cuénot's — das neben dem Hauptkern liegt: darüber, ob und in welcher Form das Bläschen vorher im Kern selbst gebildet wird, vermögen sie sichere Angaben nicht zu machen, nur soll es nicht wahrscheinlich sein, daß es im Plasma gebildet wird, sondern es soll aus dem Kern heraustreten. Andererseits sahen Siedlecki (1899) bei *Monocystis ascidiae* und Schnitzler (1905) bei *Gregarina ovata* nichts von einem solchen hellen Bläschen, sondern fanden die Spindel bereits im Kern, Siedlecki zuerst im Moment des Platzens der Kernmembran, Schnitzler schon vorher. Léger und Duboscq (1903) konnten von *Pterocephalus* nur angeben, daß einzelne Chromatinteile im Kern wahrscheinlich in Form eines Fädchens angeordnet seien und die erste Teilung wohl mitotisch verlaufe.

[1]) Dabei sind die Arten nicht berücksichtigt, die zur Kernvermehrung die gänzlich verschiedene Form der endogenen multiplen Teilung anwenden, wie sie von Caullery u. Mesnil (1900) für *Selenidium* dargestellt und neuerdings (1907) in höchst interessanter Weise für die Mehrzahl der Vertreter der Gattung *Aggregata* von Th. Moroff vorläufig mitgeteilt ist. Nur eine Art (das Weibchen von *Aggregata eberthi*) scheint sich an unsere Formen anzuschließen.

Bei *Echinomera* war ich so glücklich, die obigen Beobachtungen in gewisser Weise miteinander verknüpfen zu können, wenn ich auch nicht in der Lage war, den ganzen Vorgang lückenlos zu verfolgen. Auf dem Stadium nämlich, auf dem die Karyosome bereits völlig ineinander geflossen sind, fand ich im Innern des Kerns neben dem Restkörper ein Gebilde (Fig. 29), das ich wohl mit dem von Cuénot, Prowazek und Mrázek immer außerhalb des Kernes gefundenen Bläschen identifizieren darf: es ist ebenfalls ein Bläschen mit scharf begrenzten Umrissen, aber außerordentlich zart, im Inneren mit geringen Mengen chromatischen Staubes und einzelnen größeren Brocken. Außerdem ist ihm direkt aufgelagert eine etwas dichtere und dunklere Partie von nicht ganz regelmäßiger Umrandung mit stark färbbarem Korn in seiner oberen Partie, wohl dem Centrosom, das wir in ähnlicher Form bei den späteren Teilungen kennen lernen werden. Eine zufällige Bildung kann dies Bläschen nicht sein, weil ich es auch in dem zweiten Kern derselben Cyste auffand, wenn auch etwas kleiner, und ich gehe wohl nicht fehl, wenn ich es als das Vorstadium zur ersten Mitose ansehe.

Diese Mitose, die auch mit den Größenverhältnissen des Bläschens übereinstimmt, also sehr klein ist im Verhältnis zum ganzen Kern, fand ich ebenfalls; aber die Kernmembran ist auf dem Stadium schon ganz aufgelöst, das vorhandene Chromatin ist mit dem Kernsaft in Form einer Wolke ausgetreten, wie ich es mehrmals sah, während der Restkörper noch ziemlich unverändert ist, aber ebenfalls in das Plasma zu liegen kommt, wo man ihn noch lange findet, ehe er ganz aufgelöst wird. Die jüngste Spindel, die ich auffand, lag in der chromatischen Wolke darin, zeigte sehr deutliche Centrosome mit Sphären, auf die ich bei den späteren Mitosen näher eingehen werde, gute Polstrahlungen und Spindelfasern: das Chromatin, in Form einer Äquatorialplatte angeordnet, zeigte die eigenartigen Verhältnisse, auf die H. Prandtl (1906) in einer Arbeit über *Didinium nasutum* hinweist: bei diesem Infusor bilden sich die Chromosome erst in der Äquatorialplatte aus einzelnen kleinen Körnchen; so sind hier in der erwähnten Spindel auch die einzelnen Chromatinbrocken noch nicht zu den bei späteren Teilungen auftretenden typischen fünf Chromosomen zusammengeflossen (Fig. 30).

Es fällt ohne weiteres auf, — auch Cuénot's Bezeichnung weist schon darauf hin — daß in der ersten Mitose des Kernes weitgehende Analogien zu den Kernverhältnissen der Infusioren vorliegen. Das helle Bläschen erinnert an den Mikronukleus, trotzdem es zunächst im Kern liegt, und der Karyosomrestkörper an den Makro-

nukleus: letzterer wird sogar in ähnlicher Weise wie der Restkörper während der Teilungen des Mikronukleus ins Plasma verflüssigt, und wie die Abkömmlinge des Mikronukleus am Ende den Makronuklens wieder reproduzieren können, so bildet hier bei *Echinomera*, wie wir sehen werden, jeder Tochterkern sein Karyosom auch wieder aus sich heraus, allerdings in prinzipiell verschiedener Weise. Sobald diese Verhältnisse im folgenden eingehender dargelegt worden sind, werde ich noch spezieller auf den eben beschriebenen Dimorphismus von Haupt- und Nebenkern einzugehen haben.

Die folgenden Mitosen.

Es ist wohl nicht wahrscheinlich, daß diese erste Mitose in ihrem weiteren Verlauf wesentlich von den folgenden abweichen wird, und so habe ich sie bei den erwähnten Schwierigkeiten der Untersuchung nicht weiter verfolgt, zumal ich bei den folgenden Mitosen wieder über ein sehr reichliches Material verfügen konnte. Die ersten zwei Tochterkerne habe ich aufgefunden und zwar kurz nach der Teilung; sie unterscheiden sich nicht von denen, die aus den folgenden Teilungen resultieren. Zu bemerken ist nur, daß sie, wie die nächsten Kerne auch, im Ruhestadium bis zu drei Karyosome besitzen können; je zahlreicher aber die Kerne werden, desto weniger ist das der Fall, und schließlich, schon ehe die Kerne an die Peripherie gerückt sind, ist die Einzahl der Karyosome ausnahmslose Regel. Hinweisen möchte ich gleich hier darauf, daß eine Unterscheidung zwischen somatischen und generativen Kernen, wie sie Léger für *Stylorhynchus* entdeckte, hier nicht durchführbar ist, denn Kerne von größerem Umfang mit mehreren Karyosomen treten nicht auf, auch ist überhaupt von degenerierenden Kernen nichts zu bemerken. Vor allem bleiben in der Schnelligkeit der Teilungsfolge keine hinter den anderen zurück, vielmehr ist gerade hier die außerordentliche Konkordanz der Teilungen sehr auffällig: ehe nicht sämtliche Kerne der einen Teilungsperiode sich geteilt haben, tritt die folgende nicht ein, und zeitlich fallen diese Perioden für die beiden Kammern der Cyste mit erstaunlicher Genauigkeit zusammen. Man kann sich des Gedankens nicht erwehren, daß irgend eine Beziehung zwischen den beiden Einzeltieren der Cyste doch stattfindet — wenn auch sicher nicht in Form einer Konjugation der Kerne — ohne daß sie einen Ausdruck findet wie z. B. in den Strahlungen im Innern der *Monocystis ascidiae*. Überzeugend in dieser Richtung wirkten auf mich unveröffentlichte Studien Korschelt's über die Monocystideen des

Regenwurms, in deren Cysten sehr auffällige Verlagerungen der ungeteilten Kerne zu konstatieren waren.

Daß die Teilungsvorgänge selbst von großem Interesse sein würden, ließ schon eine Figur, die Léger und Duboscq über *Pterocephalus* davon gaben (1903), vermuten. Ich gehe zunächst auf die Centrosome ein. Bei *Pterocephalus* charakterisieren sie Léger und Duboscq (1903) folgendermaßen: „.... préscence d'un corpuscnle central en forme d'un grain simple ou géminé, très petit et bien distinct de l'appareil conique sidérophile, dont l'ensemble a la valeur d'une sphère ou de la plaque polaire d'autres Protozoaires. Ce corpuscnle se dedouble dans le commencement de la télophase.“ Abbildungen sind nicht gegeben.

Bei *Stylorhynchus* erwähnt Léger (1904) Sphäre mit Centriol im Innern, bei *Gregarina ovata* Schnitzler (1905) nur das färbbare Körnchen; von vielen Bearbeitern werden „nmfangreiche Sphären“ beschrieben, aber bemerkenswert ist, daß keiner von ihnen Centriolen im Sinne Boveri's in diesen Sphären gefunden hat. Der einzige. der überhaupt näher auf die Morphologie der Centrosome eingegangen ist nnd sie abgebildet hat,. ist Brasil (1905) bei *Gonospora* nnd *Urospora*; an seine Beobachtungen schließen sich die meinigen bei *Echinomera* eng an. Brasil faßt kurz in folgender Weise zusammen: „A l'un des poles du noyau un cône surbaissé porte á son sommet un centrosome punctiforme, on mieux un centriole, d'où émanent de fines fibrilles radiaires. Ce cône s'appuie sur sa base sur une volumineuse plaque polaire achromatique. Les phénomènes de division débntent par la duplication du centriole et du cône d'attraction. Les deux appareils s'éloignent l'un de l'autre en glissant sur la surface nucléaire.“ Dieser „cône d'attraction“ rundet sich nach der Teilung ab und an seiner Peripherie liegt polwärts immer das Centriol; daher ist Brasil im Zweifel, ob er, wie in den angeführten Worten Léger und Duboscq tun, diesen conus als Sphäre bezeichnen darf

Bei *Echinomera* kam ich zu folgendem Resnltat, das ich an Mitosen der vier oder fünf ersten Teilungsperioden erhielt: die „cônes d'attraction“ sind sehr stark ausgebildet und liegen in einer Delle des ruhenden Kernes: die Centriolen, die Brasil, Léger und Duboscq als kleine stark färbbare Körner bezeichnen, konnte ich als Bläschen mit chromatischen staubförmigem Inhalt erkennen, der sich zum Teil auch in dem Attraktionskonus vorfindet. Vor allem lag aber dies Bläschen in keiner Weise in letzterem darin, sondern war ihm deutlich abgesetzt aufgelagert (Fig. 31, 33). Dieser ganze

Apparat teilt sich dann, im Gegensatz zu den Beobachtungen bei *Pterocephalus* und übereinstimmend mit Brasil, auf dem noch ruhenden Kern, um dann auf seiner Peripherie an entgegengesetzte Pole zu gleiten (Fig. 32). Bei großen Mitosen (Fig. 35) ist, wenn die Chromosome etwa noch in der Äquatorialplatte angeordnet sind, das centrosomatische Bläschen immer noch in seiner alten Struktur ungeteilt zu erkennen, während die Sphäre meist ganz schwarz gefärbt ist, nach unten hin keine Kontur mehr zeigt, sondern hier die Spindelfasern allmählich in sich verschwinden läßt. Die hier beschriebene Natur der centrosomatischen Gebilde gibt Brasil vollends darin Recht, den Attraktionskonus nicht als Sphäre zu bezeichnen. Über die Permanenz des Centrosoms gibt keiner der genannten Forscher etwas an: ich habe von der ersten Teilung an bis zur Bildung der Gameten von keinem ruhenden Kerne behaupten können, daß ihm das Centrosom fehle, möchte also für *Echinomera* wenigstens die Permanenz annehmen.

Die herangezogenen Angaben über die Centrosomverhältnisse der Gregarinen beziehen sich, wie man bemerkt, hauptsächlich auf die Formen, bei denen die Mitose vorherrscht. Über andere Formen war bisher fast gar nichts bekannt, bis jetzt die schon erwähnten Mitteilungen Th. Moroff's bei der Gattung *Aggregata* die interessantesten Aufschlüsse versprechen. Zum Beweise führe ich am besten die eigenen Worte Moroff's aus seiner vorläufigen Mitteilung (1907) an:

„Wir begegnen Formen, wo ein Körnchen die Funktion eines Centrosoms übernommen hat; dasselbe bleibt während der Teilung im Kern und verhält sich wie das Nukleocentrosom von *Euglena* und *Adelea zonula* (Keuten-Moroff).

Bei anderen Arten sieht man das betreffende Centrosom (Centriol) in Form eines Stäbchens, das über den Kern wie der Stiel einer Birne mit seinem größten Teil nach außen vorragt, wieder bei anderen Arten ist ein typisches Centriol vorhanden, wie es bei den Metazoen nicht besser ausgebildet zu sein pflegt. Soviel ist sicher, daß die Centriolen ihre Entstehung überall aus dem Kern nehmen. Bei manchen Arten wird die Polstrahlung vom achromatischen Netz des Kernes, bei anderen vom Plasma selbst geliefert.“

Die Teilungen selbst vollziehen sich in folgender Weise: im Anfang ist in den ruhenden Kernen das Chromatin zum größten Teil wandständig gelagert, die vorhandenen Karyosome finden sich fast immer an dem dem Centrosoma entgegengesetzten Pole des Kerns. Sofort wenn nun der Attraktionskonus sich geteilt hat, beginnt das Chromatin sich in Fäden anzuordnen, die immer länger werden und sich durch das ganze Kerninnere hindurchwinden. Es scheint nicht der Fall zu sein, daß alle sich in einen einzigen Faden vereinigen, denn an der Basis des Konus sieht man immer mehrere freie Enden dicht anliegen (Fig. 36). Je mehr nun die Centrosome auf der Kernmembran an die Pole gleiten, desto mehr knäueln sich die Fäden in

der Äquatorialplatte zwischen ihnen zusammen; außer den Polstrahlungen, die vorher schon vorhanden waren, sind nun auch deutliche Spindelfasern aufgetreten, bei den größeren Mitosen von erstaunlicher Stärke, so daß man sie ohne Mühe sogar zählen kann (Fig. 35). Sie scheinen sich gleichzeitig mit dem Zurückweichen der freien Enden der Chromatinfäden von der Basis der Attraktionskonen zu bilden, vielleicht mit ihrer Hilfe. Der dichte Knäuel der Fäden zerfällt, indem sie sich stark verkürzen und verdichten, in die einzelnen Chromosome, die sich peripherisch anordnen (Fig. 37). Die Verkürzung der Fäden geht nicht sehr schnell vor sich, denn noch lange sieht man einzelne freie Enden der Fäden weit in das Kerninnere hineinragen: schließlich jedoch verkürzen sie sich alle bis auf einen, auf den ich nachher zurückkomme, und zwar so stark. daß sie ganz dicht aneinander gedrängt und meist nicht mehr zu zählen sind. An günstigen Querschnitten, wie Fig. 37, konnte ich ihre Zahl deutlich auf fünf feststellen, wie sie auch in den Tochterplatten großer Mitosen zu erkennen ist. Trotz der vielen Bearbeitungen von Gregarinen ist die Zahl der Chromosome nur bei wenigen angegeben; ich stelle sie in folgender Tabelle zusammen.

Art	Chromosomenzahl
Stylorhynchus longicollis	4
Gregarina ovata	4
Urospora lagidis	4
Gregarina aus *Rhynchelmis* (Mrázek)	4
Pterocephalus nobilis	5
Echinomera hispida	5
Monocystis aus *Lumbricus* (nach Cuénot)	8?
Aggregata jacquemeti (nach Moroff)	8?

Es fällt bei *Echinomera* und *Pterocephalus* die ungerade Zahl der Chromosome auf, die bei den anderen Formen nicht statthat, sie ist bedingt durch das Auftreten des sogenannten „axialen“ Chromosoms, wie es Léger und Duboscq bei *Pterocephalus* nannten, wo sie es 1903 entdeckten, aber nicht näher auf seine Bedeutung eingingen. Bei *Echinomera* ist es, wie vorhin schon angedeutet und in Fig. 37, 38 gut zu erkennen, bereits in der Äquatorialplatte dadurch bemerkbar, daß eins der Chromatinfädchen sich nicht verkürzt, sondern weit in das Kerninnere hineinragt, sich dabei sogar etwas

um das neben der Äquatorialplatte liegende Karyosom herumschlingt. Es bilden sich dann die Tochterplatten, wobei aber wegen der dichten Aneinanderlagerung der vier gewöhnlichen Chromosome nur schwer festzustellen ist, welchen Teilungsmodus sie einschlagen, wahrscheinlich wie bei *Urospora lagidis* und *Stylorhynchus* die gewöhnliche Längsspaltung, wobei die vier freien Enden der beiden Tochterchromosome zuletzt auseinanderweichen: bei dem „axialen" Chromosom ist der Vorgang leicht zu verfolgen und verhält sich abweichend (Fig. 39). Es wird an einem Ende beginnend längs auseinandergespalten, und zwar, wie bemerkt werden muß, zeitlich nach der Teilung der anderen Chromosome: wenn diese schon weit zu den Tochterplatten auseinandergerückt sind, hängen seine beiden anderen Enden in der Mitte noch immer zusammen. Das ist bedingt durch seine große Länge, die etwa das Vierfache der gewöhnlichen Chromosome erreicht, und damit hängt wohl auch die weit übernormale Länge der ganzen Spindel zusammen, trotzdem, wie Fig. 44 zeigt, die Tochterplatten auch dann noch weiter auseinanderrücken, wenn das „axiale" Chromosom bereits längst geteilt ist.

Das Verhalten der alten Kernmembran bei der Mitose ist insofern ein höchst eigenartiges, als sie so lange die Kugelgestalt beibehält, bis die Äquatorialplatten gebildet sind, manchmal sogar noch länger: und zwar um so länger, wie es scheint, je weiter die Vermehrung der Kerne fortschreitet. Sogar wenn die Spindel schon fast durchgeteilt ist, kann man Spuren der alten einhüllenden Kernmembran erkennen, die hier gewissermaßen die Rolle von Mantelfasern spielen. Die Spindelbildung ist demnach auch bei den Tochterkernen als eine ziemlich weitgehende intranukleäre zu bezeichnen.

Ehe ich fortfahre, möchte ich kurz einige Bemerkungen anfügen über die Berechtigung des Namens „axiales" Chromosom. Léger und Duboscq nannten es deshalb so, weil sie bei *Pterocephalus* der Ansicht waren, daß es nicht in die Peripherie des Chromosomenkreises eingeordnet sei, sondern in der Achse der Spindel liege. Das ist bei *Echinomera* nicht der Fall: es ist sogar durch die einseitig periphere Lage des langen Chromosoms eine eigentümliche Abweichung der Spindelachse von der geraden Linie gegeben. Stellt man sich die Wirkung der Centrosome so vor, daß sie einen Zug ausüben, so muß der einseitige Widerstand des sich erst später teilenden Chromosoms bewirken, daß die Tochterplatten ihre Ebenen in einen bestimmten Winkel zueinanderstellen. Wenigstens möchte ich mir so die ständig auftretende Verbiegung der Spindelachse (Fig. 44, 45)

und die eigentümliche Lage der Tochterkerne erklären (Fig. 46). Den angeführten Tatsachen gemäß werde ich im folgenden den Namen „unpaares Chromosom“ anwenden.

Es ist noch darauf hinzuweisen, daß dies unpaare Chromosom auf den ersten Blick unbedingt an die sogenannten „accessorischen“ Chromosome, wie sie in immer weiterem Umfange bei den Vorgängen der Samenreifung der Arthropoden nachgewiesen werden, erinnert, speziell an die Fälle, in denen es in der Einzahl auftritt. Als Beispiele erwähne ich die accessorischen Chromosome von *Lithobius forficatus* nach Tönniges, *Orphania denticauda* nach de Sinéty, *Locusta viridissima* nach Otte, der im hiesigen Institut mit Untersuchungen über die Spermatogenese dieser Form beschäftigt ist. Diese Chromosome haben mit dem unpaaren Chromosom von *Echinomera* das Gemeinsame, daß sie sich in der Größe bedeutend von den anderen Chromosomen unterscheiden und daß sie in der Teilung zeitlich hinter ihnen zurückbleiben. Über diese formelle Ähnlichkeit geht es aber wohl nicht hinaus, denn einmal sind diese Chromosome bisher nur in den Samenzellen nachgewiesen worden, und andererseits sind sie vor allem dadurch charakterisiert, daß sie die Teilung von den Spermatocyten II. Ordnung zur Spermatide nicht mitmachen, also immer nur in je eine Spermatide überwandern: beides ist, wie späterhin nachgewiesen werden wird, bei dem unpaaren Chromosom von *Echinomera* nicht der Fall.

Ehe dies Chromosom geteilt wird, ist in der Teilungsstelle oft eine kleine kugelige Verdickung (Fig. 41) zu erkennen, wie sie auch Léger und Duboscq bereits in ihrer Figur für *Pterocephalus* darstellen. Sind dann die Tochterplatten weit genug auseinandergerückt, so bilden sich die Tochterkerne, auf die ich näher eingehen werde, nachdem ich das Verhalten eines anderen Organs des Kernes während der Mitose behandelt habe.

Es wird aufgefallen sein, daß bereits mehrere Male für die Tochterkerne die Anwesenheit des Karyosoms erwähnt wurde, trotzdem bei der ersten Mitose die Karyosome nach Abgabe von Substanz in den Restkörper zusammengeflossen und ausgeschieden sind. Wenn sie trotzdem wieder in jedem Tochterkern regelmäßig auftreten, so müssen sie neu entstehen: und diese Neuentstehung findet nicht nur nach der ersten Mitose statt, sondern, wie ich verfolgen konnte, in jedem Kern, der sich durch Mitose aus dem alten bildet. Der Vorgang ist in der Fig. 46, 47, 48 dargestellt und verläuft in folgender Weise: das erste, was ich bemerken konnte, war eine staubförmige Ausstrahlung von Chromatin aus den Karyosomen eines großen Kerns

etwa in der vierten Teilungsperiode; die Karyosome waren in der Zweizahl vorhanden, das Chromatin zum größten Teil noch wandständig gelagert, aber der Attraktionskonus zeigte bereits die Polstrahlungen (Fig. 34). In Kernen mit einem Karyosom konnte ich das mit solcher Deutlichkeit nicht wieder auffinden. Dann teilen sich die Centrosome, die Äquatorialplatte wird gebildet und das Karyosom liegt völlig unbeteiligt neben der intranukleären Spindel, bis die Kernmembran unter dem Einfluß der Centrosome sich zu strecken beginnt und das Karyosom mehr und mehr in die Mitte zwischen die beiden Tochterplatten gerät. Es sieht ganz so aus, als ob die zähflüssige Masse nunmehr einem seitlichen Druck ausgesetzt würde, denn sie verläßt die Kugelgestalt und streckt sich manchmal ziemlich stark in der Richtung der Spindelachse (Fig. 44). Vor allem aber nimmt auch seine Größe dabei immer mehr ab (aus Fig. 44 ersichtlich durch das nebengezeichnete Karyosom aus ruhenden Kernen derselben Teilungsperiode). Schließlich ist es völlig verschwunden, und zwar ins Plasma verflüssigt; man kann zwischen den Tochterplatten höchstens noch manchmal eine fadenförmige Anordnung einzelner Körnchen wahrnehmen (Fig. 45).

Dann bilden sich aus jeder Tochterplatte und dem zugehörigen Attraktionskonus die Tochterkerne, in denen sehr bald wieder ein Karyosom zu erkennen ist. Es fragt sich, wie es entsteht.

Léger und Duboscq vermuteten für *Pterocephalus* bereits, daß es vielleicht aus dem unpaaren Chromosom gebildet würde; es gelang mir, das zu beweisen. Man kann beobachten (Fig. 46), wie sich die Tochterplatte nach der Durchteilung der mitotischen Figur dicht an die Basis des Attraktionskonus anlegt, wie die Kernmembran in Form eines Bläschens auftritt, und wie sich schließlich das unpaare Chromosom ganz dicht an diese Membran anlegt. Es wird dabei schnell dünner, auch wohl etwas länger, denn sein freies Ende liegt schließlich ganz an dem Pole des Kernes, der dem Attraktionskonus entgegengesetzt ist (Fig. 47); dann wird die Bildung des Karyosoms dadurch eingeleitet, daß sich an der Spitze des Chromosoms ein Kügelchen bildet, das am Ende die gesamte chromatische Substanz derselben aufnimmt, indem sie gewissermaßen herunterfließt (Fig. 47). Auf den letzten Stadien (Fig. 48) ist diese Kugel nur durch ein sehr dünnes Fädchen mit der alten Tochterplatte verbunden, die aber inzwischen ebenfalls allmählich an der Kernmembran heruntergeflossen ist. So ist auch der neue Kern wieder mit einem Karyosom (Fig. 49) versehen, und der Vorgang wiederholt sich, wie gesagt, bei jeder Mitose. Es ergibt sich auch ganz natürlich, weshalb das Karyosom

immer entgegengesetzt dem Centrosom gelagert ist; Léger und Duboscq stellen sich das so vor, als ob diese beiden Kernelemente gewissermaßen gleichnamig elektrisch seien, das Chromatin ungleichnamig, vielleicht um so einen Anschluß zu erhalten an die Theorie des Nukleocentrosomas bei dem Karyosom der Coccidien. Die Spindel eines großen mit zwei Karyosomen versehenen Kernes (Fig. 35) zeigt dieselben Verhältnisse, wenn auch das unpaare Chromosom in der Aufsicht gezeichnet nicht so deutlich hervortritt. Rechts sind die beiden Karyosome als in der Auflösung begriffen zu erkennen: sie hatten ursprünglich dieselbe Größe wie die Karyosome aus den Kernen derselben Teilungsperiode in Fig. 33, 34.

Das wäre über die Vermehrung der Tochterkerne zu sagen; vergleicht man sie mit den Verhältnissen bei der ersten Mitose, so läßt sich eine gewisse Analogie zwischen beiden nicht verkennen. In jedem Falle geben zu Beginn der Teilung die Karyosome einen Teil ihrer chromatischen Substanz ab, der Restkörper bleibt während der Mitose untätig liegen und wird am Ende ins Plasma aufgelöst; die Teilung selbst verläuft mehr oder weniger intranukleär, bei der ersten Mitose zunächst ganz, was wohl bedingt ist durch die überwiegende Masse der während der ganzen vegetativen Periode aufgespeicherten Karyosombestandteile.

Ehe ich fortfahre, möchte ich kurz auf die Untersuchungen über das Verhalten des Karyosoms während der generativen Periode bei anderen Gregarinen eingehen. Es ist zunächst durchaus nicht der Fall, daß diese Vermehrung mitotisch vor sich gehen muß, vielmehr ist es erstaunlich, welche Mannigfaltigkeit in dieser Beziehung bei den verschiedenen Arten herrscht. Es ist vielleicht angebracht, hier, wo wir bei *Echinomera* die höchste bei Gregarinen vorkommende Differenzierung der Mitose vor uns haben, einen kurzen Überblick über diese Verhältnisse zu geben, zumal das bisher noch nicht geschehen ist — nur einmal (1900), soweit es damals möglich war, von Caullery und Mesnil in einer Arbeit über *Selenidium*, das die am tiefsten stehende Methode der Kernvermehrung aufweist.

Mitosen sind sehr häufig: man findet sie bei *Stylorhynchus longicollis* (Léger 1904), *Pterocephalus nobilis* (Lég. und Dub. 1903), *Gregarina ovata* (Schnitzler 1905), *Monocystis ascidiae* (Siedlecki 1899), den Monocystideen des Regenwurms (Prowazek 1902), der Gregarine aus *Rhynchelmis* (Mrázek 1899), und wohl auch bei der Pseudomonocystidee *Schaudinella henleae* (Nussbaum 1903). Die erste Abweichung davon wurde bei der Coelomgregarine der Grille *Diplocystis major* (Cuénot 1901) festgestellt: trotzdem Attraktionssphären

vorhanden sind, ordnet sich das Chromatin nicht in Chromosome, sondern wird einfach in einen Klumpen zusammengeballt und dann durchgeschnürt. Das ist die erste Andeutung einer Amitose, die in den Sporen derselben Form, auch *Monocystis ascidiae* (Siedlecki 1899) ganz typisch auftreten soll. Amitose wurde auch beobachtet bei der Teilung der älteren Tochterkerne von *Monocystis ascidiae* und es wird behauptet, daß die Amitosen um so typischer werden, je häufiger die Teilungen stattgefunden haben; gerade umgekehrt gibt Woodcock (1904) von *Cystobia irregularis* an, daß zuerst die Amitose vorherrschen soll und nachher allmählich übergehe in die typische Mitose. Vor allen Dingen sind erwähnenswert die verschiedenen Methoden der multiplen Kernteilung: man wird da mit Caullery und Mesnil eine exogene und endogene multiple Kernteilung zu unterscheiden haben, die erstere in typischer Weise allerdings nur bei Coccidien zu finden, aber angedeutet auch bei der Bildung des ersten generativen Kerns in *Schaudinella henleae*, wo sich der Vorgang in der Weise vollziehen soll, daß das Chromatin des alten Kernes in feinen Körnchen in das Plasma übertritt und aus einem derselben der neue Kern gebildet wird, während der alte degeneriert. Für die endogene multiple Teilung haben wir dagegen einen typischen Vertreter in *Selenidium* aus *Spio martinensis* (Caullery und Mesnil 1900): der Vorgang, der hier der ersten Mitose bei *Echinomera* entsprechen würde, hat so wenig Ähnlichkeit damit, daß er sich kaum noch vergleichen läßt. Das große Einzelkaryosom zerschnürt sich in viele kleine Teilstücke, wovon jedes einen Teil des Chromatins des alten Kerns um sich sammelt: so entstehen, man könnte vielleicht sagen, viele Mikronuklei im Hauptkern, der sich bandförmig streckt, schließlich aufgelöst wird und die kleinen Kerne entläßt. Diese selbst aber haben sich vorher noch amitotisch vermehrt. Diese Fälle der multiplen Kernteilung scheinen nach neueren Untersuchungen Léger's und Duboscq's (1906), Moroff's (1906, 1907) an Aggregaten bei den Gregarinen noch häufiger vorzukommen. Dabei ist aber zu bemerken, daß die hierher gehörigen Formen — früher in der Tat für Coccidien gehalten — eine Mittelstellung zwischen Gregarinen und Coccidien einzunehmen scheinen, denn sie besitzen nach den bis jetzt erfolgten kurzen Mitteilungen obiger Forscher eine Schizogonie in Crustaceen und eine geschlechtliche Periode in Cephalopoden. Von Th. Moroff werden bisher bereits sieben verschiedene Typen der Kernteilung bei zwölf Arten der Gattung *Aggregata* behauptet.

Zu erwähnen wäre noch, daß sich auch die Merozoiten bei der Schizogonie der *Gonospora longissima* (Caullery und Mesnil 1898)

durch vorhergehende exogene multiple Kernteilung bilden sollen. Schließlich möchte ich des historischen Interesses wegen noch auf eine Bemerkung Schaudinn's, des Entdeckers der multiplen Kernteilung, hinweisen, in der er verspricht, multiple Kernteilung auch bei den Gregarinen des Lithobinsdarmes nachzuweisen (*Coccidium schubergi*. 1900).

Nicht minder mannigfaltig ist das Verhalten der Karyosome in den Geschlechtskernen: man kann da scharf zwei Gruppen unterscheiden, die sich auch, soweit man wenigstens jetzt zu erkennen vermag, einigermaßen der systematischen Gruppierung einfügen. Die einen besitzen in ihrem generativen Kern gar kein Karyosom mehr, es ist bereits verschwunden bei der ersten Mitose in der Cyste, die anderen dagegen verlieren es während jeder Mitose und besitzen es dann wieder in den ruhenden Kernen: und zwar scheint es, als ob die erstere Gruppe sich hauptsächlich aus den niederen Gregarinen zusammensetze; denn das völlige Verschwinden des Karyosoms nach der ersten Teilung ist bekannt vor allem von Monocystideen, so den *Monocystis*-Arten des Regenwurms, *Gonospora varia, Urospora lagidis* und *Monocystis ascidiae*. Wahrscheinlich gehört auch die Coelomgregarine *Diplocystis major* hierher, und in der niedersten Familie der Polycystideen, den Gregariniden, ist bei *Gregarina ovata* kein Karyosom in den Mitosen aufgefunden. In die andere Gruppe wären bisher nur drei Arten einzuordnen: am genauesten untersucht ist von ihnen *Stylorhynchus longicollis* von Léger. Bei dieser Form ist noch ein zweifaches Verhalten möglich: sind die Karyosome in der Mehrzahl vorhanden, wie in den somatischen Kernen der Cyste, so werden sie bei der Mitose zu gleichen Teilen auf die Tochterkerne verteilt, verschwinden also nicht, oder aber sie werden ins Plasma ausgestoßen und dort aufgelöst, wie das die Regel ist für das eine Karyosom der Geschlechtskerne. Jedenfalls sind sie in den Tochterkernen nach der Mitose immer wieder vorhanden, müssen also in den Fällen, wo sie aus dem Mutterkern nicht direkt übernommen sind, aus dem vorhandenen Chromatin neu gebildet werden. So vermutet wenigstens Léger. Die zweite Form ist *Pterocephalus nobilis*, die sich wahrscheinlich an *Echinomera hispida* anschließt, da auch bei ihr das unpaare Chromosom auftritt und das Karyosom während der Mitose verschwindet. Diese Form scheint neben *Echinomera* die einzige zu sein, bei der das axiale oder unpaare Chromosom auftritt, denn ich glaube nicht, daß Brasil recht hat, wenn er es den Figuren Prowazek's nach auch bei *Monocystis* aus Lumbricus vermutet: das, was ihn dazu bewegt, sind wohl nur

stärkere oder spiralig gedrehte Spindelfasern. Und drittens endlich erwähnt Mrázek (1898) bei seiner Gregarine aus *Rhynchelmis*, daß das in der Einzahl vorhandene Karyosom während der Mitose aufgelöst wird. Die Chromosome sind bei dieser Form wie *Stylorhynchus* in der Vierzahl vorhanden und alle gleich ausgebildet — es hat sich also ein fünftes Chromosom, dem wie *Pterocephalus* und *Echinomera* die Aufgabe der Karyosombildung zukommt, nicht herausgebildet — vielleicht wird das noch von bestimmten Teilen jedes der vier Chromosome geleistet.

Verhalten der Syzygiten bis zur Gametenbildung.

Während der beschriebenen Kernvermehrungen gehen an den beiden Einzeltieren der Cyste höchst bemerkenswerte Veränderungen vor, die ganz den bei *Pterocephalus* von Léger und Duboscq festgestellten analog sind.

Zunächst sind es Veränderungen in der Gestalt, die es ermöglichen, bereits vom Beginn der Kernteilungen an die Tiere voneinander zu unterscheiden, die später männliche und weibliche Gameten hervorbringen: man bemerkt gleich nach der Encystierung, wie das eine Tier — es ist das Weibchen — die Fläche, mit der es dem anderen anliegt, konvex nach außen hervorbuchtet, und wie sich das Männchen dieser Formveränderung immer mehr anpaßt, bis es schließlich ganz die Gestalt einer dem Weibchen aufgelagerten Kalotte annimmt. Das Weibchen selbst ist dabei etwas birnenförmig geworden und das schmalere Ende ragt in die männliche Kammer hinein (Fig. 23—27). Von einem Verschwinden oder Schwächerwerden der Umrisse der Einzeltiere ist an keiner Stelle etwas zu bemerken, man sieht sogar das flachgedrückte Protomerit mit seinem immer spärlicher werdenden chromatischen Inhalt manchmal noch ziemlich lange erhalten bleiben. Ebenso ist von einer radiär strahligen Anordnung des Plasmas in den Einzeltieren, wie es Siedlecki bei *Monocystis ascidiae* feststellte, nichts wahrnehmbar. Zu erwähnen ist, daß man neuerdings, nachdem die Annahme einer Kernkonjugation völlig widerlegt ist, die eigentümliche Aneinanderlagerung der Gregarinen in der Fortpflanzungsperiode, wie sie auch bei den Makrogameten und Mikrogametocyten der Coccidiengattung *Adelea* vorkommt, mit einer chemotaktischen Reizwirkung in Zusammenhang bringen will, die die Bildung der Gameten auslösen soll. Tatsächlich ist bei *Monocystis ascidiae* auch ein Austausch von Plasmabestandteilen im Beginn der Aneinanderlagerung entdeckt, und man kennt durch die Arbeiten von Caullery und Mesnil (1900) und Nusbaum

(1903) jetzt alle Übergänge von Gametenbildung ganz freier Individuen, nur zeitweiser Zusammenlagerung, bis zur hohen Differenzierung der Cystenbildung bei den Dactylophoriden. Bei *Schaudinnella henleae* ist sogar die Encystierung ganz beliebig von Männchen mit Männchen, Weibchen mit Weibchen oder Männchen mit Weibchen in einer Cyste nachgewiesen, die sich dann vor der Gametenbildung wieder trennen: da bleibt als Grund für die Encystierung nur die zeitweise Aneinanderlagerung übrig, und es ist sicher denkbar, daß vielleicht auftretende Diffusionsströmungen die Veranlassung zur Gametenbildung geben sollen. Für die höher differenzierten Formen ist aber der Hauptgrund wohl doch die Sicherung für das gegenseitige Auffinden der Gameten, die durch das Einschließen in eine Cystenhülle gewährleistet wird. Die Formveränderungen der Einzeltiere selbst, die oben für *Echinomera* beschrieben sind, werden bedingt, wie man bald erkennen wird, durch die spätere Ausbildung der sog. „Pseudokyste latéral“ zur Ausschleuderung der Sporen.

Die Kerne, die sich währenddes stark vermehrt haben — man kann zum Schluß ihre Anzahl auf etwa 2000 schätzen, was elf Teilungsperioden entsprechen würde — ordnen sich innerhalb der Syzygiten in gesetzmäßig bestimmter Weise an: nach den ersten Teilungen verbreiten sich die entstandenen Kerne regelmäßig über das ganze Innere beider Tiere (Fig. 23); der große Restkörper der Karyosome ist inzwischen ganz verflüssigt, und die Wolke chromatischen Staubes, die bei der Auflösung der ersten Kernmembran ins Plasma trat, hat sich über das ganze Innere verbreitet und sich schließlich als ganz ebenmäßige Schicht der Wand der einzelnen Syzygiten angelagert — sie könnte mit vollem Recht als ein vegetatives Chromidium betrachtet werden (Fig. 23). Dahin folgen ihr etwa bei der achten oder neunten Teilungsperiode sämtliche Kerne nach, nur ganz ausnahmsweise sieht man einige vorher degenerieren. Bei vielen Gregarinen, z. B. Monocystideen und Gregariniden, teilen sie sich dort weiter und bleiben bis zur definitiven Ausbildung der Gameten liegen. Das ist bei *Echinomera* genau wie bei *Pterocephalus* aber nur mit den männlichen Kernen der Fall, die weiblichen treten unter Vermehrung ihrer Zahl wieder ins Innere zurück und zwar in eigentümlichen faltenartigen Zügen (Fig. 25). Ihnen vorauf gehen, wie es Léger und Duboscq bei *Pterocephalus* abgebildet haben, große Kugeln stark verdichteten Plasmas, die sich aus der Wandpartie gebildet haben; diese Kugeln lassen, wie bei *Echinomera* zu beobachten ist, einen Teil ihrer Substanz in die Züge der Kerne hineinfließen

— um so mehr, je weiter sie dem Zentrum zurücken. Dort angelangt vereinigt sich dann ihr Rest zu einer Hohlkugel, wie sie Fig. 25 im Schnitt zeigt. Aber auch sie verliert sich bald zwischen die Kerne. Diese teilen sich nunmehr zum letztenmal, wobei sich die großen Faltenzüge in einzelnen Partien über das Plasma verbreiten, und zwar innerhalb dieser Partien so, daß sich die Kerne nach der Teilung überall gewissermaßen in zwei Wänden gegenüberstehen (Fig. 26 und Fig. 50). Diese Kerne bilden dann die weiblichen Gameten, die männlichen Kerne haben sich unterdes an der Peripherie ebenfalls stark vermehrt und sind dabei sehr klein geworden, viel kleiner als die weiblichen.

Bildung der Eier.

Die Cyste gebraucht, um dies Stadium zu erreichen, von der Ausstoßung aus dem Darm an gerechnet, etwa 2—3 Tage, und zwar um so weniger, je wärmer es bei entsprechender Luftfeuchtigkeit ist. Dann geht also die Bildung der Gameten vor sich, zunächst der weiblichen, die etwas früher fertig sind als die männlichen. Ihre Entstehungsweise, speziell die Entwicklungsmechanik, die Lage der Teilungsebenen des Plasmas betreffend, zeigt ganz interessante Verhältnisse, auf die ich kurz aufmerksam machen möchte.

Gehen wir zurück auf das Stadium, in dem die Kerne in den erwähnten faltenartigen im Anfang ungefähr radiär verlaufenden Zügen angeordnet sind, so kann man sich durch eine schätzungsweise Zählung vergewissern, daß nur eine Mitose jedes Kernes nötig ist, das letzte Stadium zu erreichen: durch diese Mitose wird ein solcher aus einer Lage von Mutterkernen bestehender Zug in zwei Züge vermehrt, die auseinanderrücken, bis sie sich an einen ebensolchen von anderer Seite gebildeten dicht anlegen können. Der ganze Zug zerfällt dabei meist in kleinere, die sich in beliebiger Richtung orientieren können. So erklärt es sich, daß in der durch Zusammenlegung entstandenen Doppelwand von Kernen sämtliche Centrosome auf den nach innen gerichteten Polen der Kerne sitzen, also in den beiden Einzelwänden alle einander zugekehrt sind (Fig. 50 stellt bei *a* und *a'* zwei solche Doppelwände im Schnitt dar, wie sie in großer Anzahl auch in Fig. 26 zu sehen sind): wie teilt sich jetzt das Plasma um die Kerne ab, damit das Ei zustande kommt? Es ist klar geworden, daß die zwei Wände *a* und *a'* in Fig. 50 durch Teilung aus einer Wand von Mutterkernen entstanden sind, also ergibt sich e i n e Teilungsebene für das Plasma durch die bekannte entwicklungsmechanische Regel, daß sie senkrecht auf der

Achse der letzten mitotischen Figur stehen muß, in unserem Falle (Fig. 50, 51 bei d_1) mitten zwischen nnd parallel den beiden Wänden der Tochterkerne. Es soll nun erreicht werden, daß zur Bildnng der Eier das ganze Plasma ohne Rest unter sie verteilt wird: das wird ermöglicht durch das Verhalten des Plasmas, das zwischen den Wänden der Doppelwand (Fig. 50, *a* oder *a'*) ursprünglich eingelagert ist. Es tritt aus dem Zwischenranm zwischen den Einzelwänden hinter die Einzelkerne herans, einen freien Ranm lassend, dessen zickzackförmige Gestalt im Schnitt durch die streng alternierende Anordnung der einzelnen Kerne bedingt ist (Fig. 50 und 51 bei d_2). Ehe dann die Teilung bei d_1 (Fig. 50 und 51) ganz durchgeführt wird, vertiefen sich die kleinen zickzackförmigen Einschnürungen um jeden Kern herum (Fig. 51) bis zu ihr hin, und so sind in der Tat die Eier entstanden, ohne daß irgendwo nur eine Spur von Plasma zurückbleibt oder die Eier verschieden groß wären. Man wird zugeben, daß die Aufgabe mechanisch nicht ganz leicht ist, die gegebene Plasmamasse gleichzeitig in gleich große Teile zu zerlegen und weil es mir interessant erschien, die Lösung zu verfolgen, bin ich anf die Einzelheiten eingegangen.

Zn erwähnen ist noch, daß die Eier sich, wenn sie fertiggestellt sind, und von der Teilungsebene d_1 fortrücken, wiederum alternierend, wie vorher ihre Kerne lagen, zwischeneinander schieben — nach entgegengesetzten Richtungen über die Teilungsebene d_2 hinaus. Zweck ist die Verkettung der Sporen, auf die nachher eingegangen wird.

Das Ei selbst ist von cylindrischer Gestalt, an seinem einen Pol ist der Kern gelagert, während der andere zunächst noch etwas verdickt ist, sich aber bald walzenförmig abrundet (Fig. 52). Im Kern selbst ist mit aller Deutlichkeit das Karyosom bemerkbar und an seinem distalen Pol das Centrosoma, wie es scheint, immer noch dem Attraktionskonus aufsitzend. Das Chromatin ist wieder wandständig. Der ziemlich starke Größenunterschied der Karyosome in Fig. 50 und 51 ist nicht ganz typisch, da auch die Kerne etwas größer und überhaupt die Karyosome in verschiedenen Cysten verschieden groß sind. Trotzdem muß dahingestellt bleiben, ob nicht doch eine gewisse Verkleinernng des Karyosoms in den Eiern zustande kommt entweder durch Abgabe von Chromatin oder durch festere Zusammenlagerung. Die relativ große Plasmamasse des Eis ist stark wabig gebaut und es sind auf den Wabenwänden immer kleine durch Eisenhämatoxylin intensiv färbbare Körnchen verteilt.

Entstehung der Mikrogameten.

Beim Studium der Entwicklung der Mikrogametenkerne in dem männlichen Syzygiten selbst traten sehr unangenehme Mißstände in der Konservierung auf, die es mir — ganz abgesehen von der eminenten Kleinheit der Verhältnisse — unmöglich machten, die Genese ganz lückenlos zu verfolgen. Auf den letzten Stadien färben sich die Kerne, trotzdem die verschiedensten Konservierungsflüssigkeiten angewandt wurden, stets intensiv schwarz, ohne daß es möglich war, eine Differenzierung zu erzielen. Einigermaßen annehmbare Resultate erhält man mit Zenker'scher oder Duboscq'scher Flüssigkeit. Sind aber die Kerne erst ganz aus dem Plasma des männlichen Tieres herausgetreten, so daß sich Strichpräparate herstellen lassen, so erhält man in folgender Weise auch für die Eier sehr brauchbare Resultate: Man zerdrückt die Cysten des betreffenden Stadiums in einem Tropfen der glashellen Körperflüssigkeit eines Mehlwurms, streicht ihn auf dem Objektträger etwas aus, und legt diesen dann möglichst schnell umgekehrt in eine Schale mit Zenker'scher Lösung. Die Blutflüssigkeit gerinnt sofort und haftet auf dem Objektträger sehr fest, worauf man wie bei einem Schnitt verfährt.

Von der Entwicklungsweise der Eier unterscheidet sich die der Spermatozoen sofort dadurch, daß der Plasmakörper des Männchens fast völlig erhalten bleibt (Fig. 27), während der des Weibchens restlos in die Oogenese eingeht. Man sieht, wie schon erwähnt, die männlichen Kerne zunächst an der Peripherie des Männchens oft in mehreren Schichten übereinander gelagert, und ich konnte auf einem Cystenstadium, in dem die Eier fast der Vollendung nahe waren, folgenden Bau erkennen (Fig. 62). Die Kerne sind im allgemeinen von rundlicher Gestalt, beginnen aber bereits etwas, sich in die Länge zu strecken; an dem einen Pol ist immer ein Körnchen erkennbar, das wohl ziemlich sicher als das Centrosom anzusehen ist: dafür spricht auch die Lagerung des Karyosoms, das ebenso wie bei den jüngeren Tochterkernen der Cyste das Bestreben hat, sich an den diesem Körnchen entgegengesetzten Pol des Kernes zu lagern. Das Karyosom selbst ist in den meisten Fällen von runder Gestalt, hat aber, wie das auch in Fig. 62 hervortritt, das Bestreben, sich ganz dicht an die Kernmembran anzuschmiegen, indem es sich dabei abplattet. Ganz verfolgen konnte ich das nicht, da sich in den folgenden Stadien das Kerninnere fast gar nicht mehr differenzieren läßt. Der Kern tritt dann aus dem Plasma des männlichen Tieres heraus, wobei er nur von einer ganz außerordentlich

dünnen Plasmahülle umgeben ist; in den meisten Fällen ist sie überhaupt nicht zu erkennen, höchstens als stärker lichtbrechende Membran. Das Stadium, auf dem meine Strichpräparate mir wieder Aufschluß über die innere Struktur geben, zeigt bereits die Gestaltung, wie sie in Fig. 64 a abgebildet ist: der Kern ist ziemlich längs gestreckt, in ihm ist das Chromatin in zwei Partien an die Pole verlagert, aber von einem Karyosom ist nichts mehr zu sehen. Man darf der Menge des vorhandenen Chromatins nach vermuten, daß es sich ganz unter das andere Chromatin aufgelöst hat. Dagegen ließen sich die Centrosomen wieder feststellen, und zwar, wie ich mit ziemlicher Sicherheit behaupten kann, in der Zweizahl an dem einen Ende des Mikrogameten: sie sind in den gezeichneten Stadien (Fig. 64 a—f) mehr oder weniger gut sichtbar. Zwischen ihnen hat sich eine kurze Geißel gebildet. Eine plasmatische Differenzierung am Vorderende in Form eines kleinen Rostrums (Fig. 67 *d*) war nur selten deutlich erkennbar. Je weiter das Spermatozoid in der Reifung fortschreitet, desto länger streckt sich auch der Kern, bis er schließlich ganz spindelförmig und an beiden Enden zugespitzt ist; dabei wird er seitlich etwas abgeflacht. Das Chromatin sammelt sich schließlich auch in der Mitte des Kernes an, aber wiederum eine hellere Partie vor und hinter sich freilassend (Fig. 67*f*).

Was Léger und Duboscq von den Spermatozoiden des *Pterocephalus nobilis* mitteilen konnten, ist von meinen Beobachtungen etwas, wenn auch nicht prinzipiell verschieden. Die Länge geben sie auf 7 μ an, während sie bei *Echinomera* höchstens 5 μ erreicht. Von Centrosomen ist nichts erwähnt, dagegen soll das Chromatin etwas anders angeordnet sein: in dem ziemlich stark abgeplatteten und nach einer Seite eingekrümmten, aber ebenfalls spindelförmig zugespitzten Kerne liegt es zu einem Teil auf der Dorsalseite, zum anderen auf der Ventralseite, und vor letzterem soll auch eine hellere Partie ähnlich den bei *Echinomera* vorhandenen zu erkennen sein. Das nach innen gebogene Rostrum an der Spitze ist überall deutlich. Interessant ist die Angabe, daß am lebenden Objekt eine undulierende Membran sichtbar sein soll. Meine Beobachtungen bei *Echinomera*, die ich nur an konserviertem Material vornahm, scheinen ebenfalls auf das Vorhandensein einer solchen Membran hinzuweisen: fast immer konnte ich (Fig. 64 a, b, c, e) in der nächsten Umgebung des Gameten eine hellere abgegrenzte Partie feststellen, die einer Membran nicht unähnlich war; das wird bekräftigt dadurch, daß ich die untere Geißel nie über das zweite Centrosoma hinaus zu verfolgen vermochte: vielleicht ist eben die Schwanzgeißel durch die undulierende

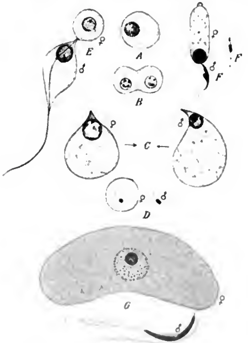
Membran ersetzt. Zu bemerken ist, daß auch Léger nnd Duboscq von der unteren Geißel des Spermatozoids von *Pterocephalus* angeben, sie sei abgestnmpft. Entscheiden kann ich aber nicht, ob ich mich nicht dadurch habe täuschen lassen, daß die helleren Partien um das Tier herum Abbildnngen einer schlängelnden Bewegung vor dem Tode sind.

Die Befruchtnng erfolgt dann in der Weise, daß die Spermatozoiden sich über das ganze Innere der weiblichen Kammer verbreiten und jedes in ein Ei eindringt. Manchmal sah ich, wie es mit seiner Spitze dem Plasmakörper anlag, und ein solches Stadium habe ich in Fig. 55 abgebildet, meistens aber scheint ein Eindringen des Spermatozoiden in den Kern des Eies direkt zu erfolgen. Daher möchte ich es für wahrscheinlich halten, wenn ich auch einen Mikrogameten im Plasma des Makrogameten selbst nie sah, daß wie bei *Pterocephalus* auch hier die Befruchtung von einer beliebigen Stelle aus erfolgen kann. Zum Schluß liegt der Kern des Spermatozoids immer als eine spindelförmige aufgelockerte chromatische Masse im Eikern darin, dessen Chromatin sich von der Wand zu entfernen und sich mit dem des männlichen Kernes zu vereinigen beginnt (Fig. 56).

Anf eine auffällige Tatsache möchte ich noch hinweisen, die Wanderung der Spermatozoiden aus der männlichen in die weibliche Kammer betreffend: es bildet sich nämlich nm den männlichen Plasmakörper eine Hülle — entsprechend der Sporodnktenhülle der Gattung *Gregarina* —, auf deren Bedeutung ich nachher eingehe. Es ist interessant, daß diese Hülle in ihren ersten Anfängen bereits vorhanden ist, ehe die Spermatozoiden ganz reif sind: zum Zweck der Ausführung der Befruchtung muß sie also von ihnen durchbrochen werden. Ein Grund dafür ist vielleicht die Verhinderung der Verschmelzung von unreifen Elementen, die ohne sie an den Berührungsstellen von Männchen und Weibchen dicht aneinander liegen würden. Trotzdem aber werden durch sie viele vielleicht etwas zu spät gereifte Spermatozoiden verhindert, an dem Befruchtungsprozeß teilznnehmen: man sieht sie dann in dichte Bündel geschart in Lücken des männlichen Körpers liegen, wo sie degenerieren (Fig. 63).

Das wäre der Geschlechtsprozeß bei *Echinomera:* zieht man den wahrscheinlich ganz analogen von *Pterocephalus nobilis* hinzu, so wird man sagen müssen, daß die Gregarinen in der Familie der Dactylophoriden eine Höhe in der Ausbildung anisogamer Befruchtungselemente erreicht haben, wie sie auch von den Coccidien nicht übertroffen worden ist. Weiter oben habe ich bereits kurz zusammengestellt, in welcher Weise nach dem bisherigen Stand der Unter-

suchungen Isogamie und Anisogamie über die Gregarinen verteilt sind, und möchte dem hier anschließen eine gedrängte Übersicht über den Bau der einzelnen Typen der Gameten, in die sich dann die bei den Dactylophoriden gefundenen Verhältnisse leicht werden einordnen lassen. Man wird erkennen, daß alle möglichen Übergänge



Textfig. 2. Verschiedene Gametenformen.

Fig. A—F. Zusammenstellung der Haupttypen der Gameten bei Gregarinen.

A. Einer *Monocystis*-Art des Regenwurms (nach Cuénot)
B. *Gregarina ovata* (nach Schnitzler) } Isogamie.
C. *Urospora lagidis* (nach Brasil)
D. *Schaudinella henleae* (nach Nusbaum)
E. *Stylorhynchus longicollis* (nach Léger)
F. *Pterocephalus nobilis* (nach Duboscq u. Léger)
F'. Spermatozoid von *Echinomera hispida* } Anisogamie.

Fig. G. Anisogamie bei *Coccidium schubergi* (nach Schaudinn).

bis zu ihnen hin vorhanden sind: bei den *Monocystis*-Arten des Regenwurms (Textfig. 2 A) ebenso bei *Monocystis ascidiae* und *Gregarina ovata* (B) ist die primitivste Isogamie festgestellt, indem die Gameten

beide einfach kugelförmig sind von gleicher Größe des Plasmas und des Kerns. Die erste Andeutung zur Anisogamie tritt bei *Urospora lagidis* (C) nach Brasil auf: die Quantität des immer noch kugelförmigen Plasmakörpers ist bei beiden Geschlechtern ungefähr dieselbe, aber der männliche Kern ist bedeutend dichter gefügt und kleiner, und es bietet sich bereits eine Homologie zu dem Typus der Dactylophoriden darin (F), daß wie bei den Eiern dieser Familie auch die Kerne an einen Pol verlagert sind und an ihrer Spitze die Centrosome tragen. Noch weiter geht die Ähnlichkeit bei *Schaudinella henleae* (D), wo nun auch das Plasma schon in überwiegendem Maße dem Ei zugeteilt wird, das wieder kugelförmig ist: das Spermatozoid nähert sich bereits dem flagellatenähnlichen Typus, wenn sich auch der Kern noch nicht mitstreckt und die beiden Pole des Gameten ganz gleichwertig sind. Das ändert sich bei *Stylorhynchus* (E), indem bei den Spermatozoiden dieser Form wie bei *Pterocephalus* und *Echinomera* vorn das Rostrum und hinten die Geißel zu konstatieren ist: der Kern ist freilich ebenfalls noch rund, und eine ganz gegen die allgemeine Regel verstoßende Eigentümlichkeit der Gameten besteht darin, daß das bewegliche Spermatozoid eine größere Plasmamenge besitzt als das runde unbewegliche Ei. Um zu dem Spermatozoid von *Echinomera* überzuleiten, braucht man nur noch eine Streckung des Kerns anzunehmen: es geraten dann auch die Centrosome an ihre richtige Lage, da sie bei *Stylorhynchus* am hinteren Pol des Kernes zu zweien am intracellulären Schwanzfaden anliegend gefunden sind. Zum Vergleich der Größe und dem Bau nach habe ich auch die typischen Anisogameten des *Coccidium schubergi* bei derselben Vergrößerung in die Textfigur aufgenommen (G). Was vor allem bei den sieben dargestellten Typen auffällt, sind die riesigen Größenunterschiede, zumal in der Plasmaverteilung.[1])

Reifung der Makrogameten.

In welcher Weise bei den Gregariniden der Reduktionsprozeß vor sich geht, ist noch eine sehr umstrittene Frage: ob sie in der

[1]) Von höchstem Interesse werden in diesem Zusammenhange Untersuchungen Th. Moroff's sein, die sich nach vorläufigen Mitteilungen auf die Gattung *Aggregata* beziehen. Bereits 1906 charakterisierte Moroff die Spermatozoide von *Aggregata jacquemati* (Moroff) dahin, daß sie (bei einer Länge von 50 μ und Breite von 1 μ) wie *Echinomera* eine undulierende Membran und eine Endgeißel besitzen sollen; der Kern nimmt etwa die Hälfte der Länge ein. Darnach scheinen auch die Spermatozoide wie die ganzen Formen überhaupt eine gewisse Mittelstellung zwischen Coccidien und Gregarinen einzunehmen.

starken Ausstoßung von Chromatin bei der ersten Mitose zu suchen ist, oder in Reduktion des Karyosoms während der Befruchtung, schließlich auch, ob das alles nicht viel mehr eine „Epuration nucléaire“ nach SIEDLECKI als eine Reifungserscheinung ist, blieb bisher dahingestellt. Nur bei einer Form, *Gregarina ovata* ist von SCHNITZLER (1905) eine Reduktion durch Mitose festgestellt.

Ich möchte zunächst die bei *Echinomera* gefundenen Tatsachen anführen. Eine Reduktion durch Mitose an den Gameten selbst ist für *Echinomera* sicher nicht vorhanden, denn es wurde große Mühe darauf verwandt, den Entwicklungsgang des Eies ganz kontinuierlich zu verfolgen, was ja bei dessen Größe auch nicht schwer hält. Auch LÉGER und DUBOSCQ konnten das für *Pterocephalus* und *Stylorhynchus* mit ebensolcher Sicherheit behaupten, beschreiben dafür aber bei *Pterocephalus* eine ganz eigenartige „reduction cytoplasmique“: sie soll in der Weise vor sich gehen, daß, ehe die Befruchtung sich vollzieht, an dem plasmatischen Pol des Eies ein Tröpfchen Plasma sich abschnürt, ohne daß aber chromatische Substanz darin festzustellen wäre. Lange Zeit glaubte ich, daß auch bei *Echinomera hispida* derselbe Prozeß sich abspiele, denn ich besaß eine genügende Anzahl von Präparaten, die mir dieselben Bilder lieferten, wie sie LÉGER und DUBOSCQ geben; schließlich aber fiel es mir auf, daß sie auf Schnitten nie zu finden waren, sondern stets nur, wenn ich die Eier in einen Tropfen physiologischer Kochsalzlösung ausstrich und nach schwachem Räuchern in Osmiumsäuredämpfen antrocknen ließ. Ich zweifle nicht daran, daß das heraustretende Tröpfchen eine Folge des Antrocknens des doch ziemlich umfangreichen Eies war; daß es am plasmatischen Pol austrat, ist dadurch erklärlich, daß hier die Eier am längsten miteinander zusammengehangen haben und also wohl am wenigsten widerstandsfähig sind.

Dagegen bemerkte ich, wie sich am Karyosom ein Vorgang vollzieht, der wohl eher für die Reduktionsfrage in Betracht kommt.

Zunächst kann man, wenn die kugelige Gestalt des Karyosoms allein nicht genügen sollte, es von anderem auftretenden Chromatin zu unterscheiden, in der Weise verfahren, daß man die Durchfärbung des Schnittes mit Eisenhämatoxylin sehr lange Zeit dauern läßt, und dann außerordentlich stark differenziert; man wird dadurch immer erreichen können, daß das Chromatin wieder völlig farblos wird, aber es wird schwer sein, dem Karoysom und dem Centrosom die Farbe überhaupt wieder zu entziehen. Auf diese Weise glaube ich erkannt zu haben, daß in den jüngsten Stadien der Eier das Karyosom immer in der Einzahl vorhanden ist (Fig. 52, 53), sich später

aber immer in mehrere — in der Regel drei — kleinere zersprengt findet: zwei der ebenfalls kugeligen Teile findet man fast immer im Kern (Fig. 55) und eines entweder im Plasma des Eies, in dem vorher chromatische Bestandteile von der Größe nicht vorhanden waren, oder auch frei zwischen den Eiern; jedenfalls waren an letzterer Stelle stark färbbare karyosomähnliche Kugeln immer auffindbar, wenn ich sie auch nicht direkt identifizieren konnte, da ich den Teilungsvorgang des Karyosoms selbst nicht verfolgen konnte. Ist die Befruchtung eingetreten, so sieht man auch von den runden Karyosomresten im Kern kaum noch etwas, wahrscheinlich haben sie sich in der Form dem übrigen Chromatin angepaßt (Fig. 55). Tatsache ist jedenfalls, daß in den nunmehr folgenden Stadien bis zum Sporozoiten hin ein Karyosom in der typischen Form nicht mehr auftritt, sondern, wie bereits beschrieben, erst im Darm des Wirtstieres wieder gebildet wird.

Einen entsprechenden Vorgang hat Léger auch für das Karyosom der Makrogameten von *Stylorhynchus longicollis* nachgewiesen: das im Anfang zentral liegende Karyosom rückt an die Kernmembran, die sich öffnet, und entsendet von dort aus ins Plasma einen Teil seiner Substanz durch Abschnürung. Eine typische chromatische Reduktion aber bestreitet er für diese Form ebenso wie für *Pterocephalus*. Hinweisen möchte ich darauf, daß man für *Echinomera* und *Pterocephalus* auch einen gewissen indirekten Beweis dafür führen kann, daß eine solche typische Reduktion, d. h. Halbierung der Zahl der Chromosome, während der letzten Teilungen bis zur Bildung des Eies nicht stattfinden kann: denn für diese beiden Arten ist die Zahl der Chromosome auf fünf erkannt, und da das unpaare Chromosom das Karyosom bildet, müßte die Hälfte der Gameten ohne Karyosom sein. Das ist aber nicht der Fall.

Um zu einiger Klarheit über die Frage der Reifung zu kommen, läge es sehr nahe, die Verhältnisse bei den Coccidien zum Vergleich heranzuziehen; denn einmal sind diese doch unzweifelhaften Verwandten der Gregarinen infolge günstigerer Bedingungen für das Studium viel genauer durchforscht und dann bieten sich in der Tat sehr brauchbare Vergleichsmomente. Es kommen für die Reifungsvorgänge eigentlich nur Ausstoßungen von Karyosomen in Frage, genau von der Art, wie sie für *Echinomera* und *Stylorhynchus* beschrieben sind. Aber man hat auch bei den Coccidien eine Entscheidung noch nicht treffen können, vielmehr schwankt man — ebenso wie bei den Gregarinen selbst — noch zwischen den beiden Möglichkeiten, daß die Ausstoßung nur eine Kernreinigung (Epuration

nucléaire nach SIEDLECKI) oder eine Reduktion sein kann. Jedoch ist darauf hinzuweisen, daß immer mehr eine Beziehung des Karyosoms zum typischen Chromatin der Kerne erkannt wird; man vergleiche die bereits erwähnte Entstehung des Karyosoms in manchen Sporozoiten, die interessante Regeneration des ganzen Kernes aus ihm bei *Caryotropha mesnilii* (SIEDLECKI 1905) und die vielfach vorkommende Verschmelzung des gesamten Chromatins mit ihm.

Bei Gregarinen tritt die Beziehung des Chromatins zum Karyosom aus den angeführten Tatsachen für *Echinomera hispida* zur Genüge hervor, einmal die Entstehung des Karyosoms aus dem Kernchromatin in den Sporozoiten wie bei den Coccidien, dann die Verschmelzung des gesamten Chromatins mit ihm und der nachherige Neuaufbau des Kernnetzes aus ihm, schließlich und vor allem die Bildung des Karyosoms aus dem unpaaren Chromosom.

Alle diese Beobachtungen sollten es einigermaßen wahrscheinlich machen, daß die Ausstoßung eines Teiles der Substanz des Karyosoms mehr als Reduktion des Chromatins der Geschlechtskerne zu betrachten ist denn als Kernreinigung.

Tritt SIEDLECKI (1905) dennoch für den Gedanken einer Kernreinigung ein, weil das ausgestoßene Karyosom bei einigen Formen (*Caryotropha mesnilii*) wegen seiner beherrschenden Tätigkeit in der Wachstumsperiode sich als vegetative Substanz erwiesen habe, so muß man darauf aufmerksam machen, daß doch schließlich auch das Karyosom, zum mindesten, um vererbt werden zu können, eine gewisse Grundlage an generativer Substanz besitzen muß. Ein gutes Beispiel dafür ist wieder *Echinomera*, bei der dem Kerne der vegetativen Periode allein von dem Karyosom der Charakter aufgeprägt wird, dieses Karyosom aber nachher dennoch als Chromosom, also in der Form typischer generativer Substanz, auftritt. Ähnliches ist bei *Stylorhynchus longicollis* der Fall, wo unbedingt das Karyosom während der Mitosen der generativen Kerne in einem oder allen der vier Chromosome vorhanden sein muß, da es in jedem Tochterkern zu konstatieren ist.

Von prinzipieller Bedeutung aber für die Frage auch bei den Gregarinen sind die Worte SCHAUDINN's (1900) in seiner berühmten Arbeit über *Coccidium schubergi*: „Ich glaube, daß wir (über die Frage der Kernreinigung oder Kernreduktion) gar nichts aussagen können, wir wissen nur, daß bei den bisher untersuchten Coccidien vor oder nach der Befruchtung ein Teil des Kernes zugrunde geht, d. h. die Kernsubstanz wird verringert, und nur in diesem weitesten Sinne kann man von Reduktion sprechen. Von der physiologischen

Bedeutung dieser Vorgänge können wir nichts aussagen. Sie aber direkt mit der komplizierten Reduktion bei der Richtungskörperbildung der Metazoeneier in Beziehung zu bringen, scheint mir, solange wir keine Übergänge haben, nicht gut möglich".

Vielleicht ist aber doch bei den Gregarinen in dieser Beziehung mehr zu erwarten als bei den Coccidien, wenn die Vorgänge umfassender studiert werden, denn bei ihnen haben wir wenigstens die Mitose, die für den Begriff einer Reduktion im Sinne der Metazoenreduktion wesentlich ist.

Zum Schluß möchte ich bemerken, daß wohl die Chromatinausstoßung bei der ersten Mitose der Gregarinen am allerwenigsten als Reduktion angesehen werden kann, denn dagegen spricht zu sehr die durch das ganze Tierreich gehende Regel, daß mit den Reifungsvorgängen die Bildung der Gameten abgeschlossen wird, und nicht erst noch viele Mitosen mit dem bereits reduzierten Chromatin dazwischen liegen, wie das hier der Fall sein würde.

Der Kerndualismus bei den Gregarinen.

Es ist bereits an früherer Stelle kurz ein Vergleich der Verhältnisse bei der ersten Kernteilung der Gregarinen mit den Konjugationsvorgängen der Infusorien durchgeführt worden: nachdem jetzt die Deutung als Reduktion zurückgewiesen ist, wird hier der Ort sein, der Frage näher zu treten im Anschluß an jene großen allgemeinen Gesichtspunkte, die Schaudinn über die Befruchtungsvorgänge der Protozoen aufgestellt hat (kurz zusammengefaßt in einem Vortrag auf der 15. Tagung der deutschen zool. Gesellschaft). Schaudinn suchte die Tatsache des Kerndualismus, wie er in klassischer Weise bei den Infusorien auftritt, unter Zuhilfenahme des Begriffs des Chromidiums für das ganze Protozoenreich zu verallgemeinern: *überall läßt sich eine vegetative und generative Substanz während der geschlechtlichen Periode unterscheiden, jede fähig aufzutreten entweder als typischer Kern oder als Chromidium.* Es scheint gelungen zu sein, eine große Anzahl auf den ersten Blick sehr verschiedenartiger und mannigfacher Verhältnisse in diesen einfachen Worten zusammen zu fassen und unter einen Gesichtspunkt zu bringen: ich gehe auf die wenigen und dennoch recht bemerkenswerten ein, die uns bei den Gregarinen entgegentreten.

Das Gemeinsame bei der ersten Kernteilung aller bisher daraufhin untersuchten Arten besteht darin, daß zur Bildung der Gametenkerne

nur ein verhältnismäßig sehr kleiner Teil des gesamten Chromatins verwandt wird; der Rest tritt ins Plasma. Formell haben wir also jedenfalls einen Dualismus des Kernchromatins vor uns, und soviel ist sicher, daß das generative Chromatin immer in Form eines typischen Kernes auftritt: minder einheitlich und komplizierter ist die Frage nach dem vegetativen Teil des Chromatins. Auf den Fall des *Stylorhynchus longicollis* wies bereits Schaudinn selbst hin: Léger gibt nichts darüber an, wie sich das ins Plasma ausgetretene Chromatin verhält, wohl aber macht er darauf aufmerksam, daß zwischen den nachher auftretenden generativen Kernen einzelne der Lage, der Größe, dem Teilungsmodus und dem Karyosominhalt nach unterschiedene Kerne zu finden sind, die bei Beginn der Gametenbildung degenerieren. Das ist nach Schaudinn die vegetative Komponente des Kerndualismus bei *Stylorhynchus*, die demnach ebenfalls in Kernform auftritt. Nicht berücksichtigt ist dabei das aus dem ersten Kern ausgetretenen Chromatin, das bei den anderen Formen — ich beschränke mich auf die typischen Fälle bei *Gregarina ovata*, *Pterocephalus* und *Echinomera* — eine so in die Augen fallende Rolle spielt. Will man Schaudinn's allgemeine Betrachtungsweise auch hier anwenden, so kann man bei ihnen nur dies Chromatin als die vegetative Komponente bezeichnen: es tritt in Form einer chromatischen Wolke aus, untermischt entweder mit einzelnen kleineren Karyosomrestkörpern oder einem großen. Kann man diese gesamte ausgestoßene Chromatinmasse unter dem Namen eines vegetativen Chromidiums zusammenfassen, so daß also der Kerndualismus bei diesen Formen darin bestände, daß die generative Substanz in Form von Kernen, die vegetative in Form eines Chromidiums auftritt?

Zu berücksichtigen ist, wie es bei allen drei erwähnten Arten beschrieben ist, daß der eine Teil des ausgetretenen Chromatins ganz entgegen dem Verhalten typischen Chromatins verflüssigt wird, das andere dagegen wie ein echtes Chromidium immer feiner staubförmig wird, und sich an die Peripherie der Cyste lagert. Soll man nicht doch nur dies letztere als das vegetative Chromidium ansehen? Dagegen spricht das Verhalten des Makronuklens der Infusorien, der bei ihnen als die vegetative Komponente des Kerndualismus angesehen wird, denn er verflüssigt sich in derselben Weise wie die Karyosomrestkörper der Gregarinen. Auch müßte man sonst diesen Teil als degenerierend und wertlos während der Fortpflanzungsperiode ansehen, vielleicht als eine Kernreinigung im Sinne Siedlecki's nach der langen vegetativen Periode: es ist aber zu beachten, daß sich dieser Prozeß der Karyosomausstoßung — wie bei *Echinomera*

nachgewiesen — in der generativen Periode bei jeder Kernteilung mit großer Exaktheit wiederholt. Man ist versucht zu glauben, daß eine so häufige „Kernreinigung“ nicht nötig wäre, und daß dem ausgestoßenen und verflüssigten Körper wohl doch irgend eine Aufgabe zukommt, vor allem, wenn man bedenkt, daß die Kernteilungen fast ohne Pause vor sich gehen, dabei sicher eine große Energiemenge verbrauchen, deren Heranschaffung diese sich teileuden Kerne, indem sie sich am Stoffwechsel nicht betätigen können, vielleicht nicht zu bewältigen vermögen. Es scheint also etwas dafür zu sprechen, daß die Karyosomreste in gewissem Sinne als zum vegetativen Chromidium gehörig betrachtet werden dürfen, dagegen aber die Tatsache, daß bei *Stylorhynchus* ebenfalls solche Ausstoßnngen vorkommen nnd dennoch die vegetative Komponente gesondert in Form typischer Kerne auftritt. Jedenfalls ist zur Genüge erwiesen, daß es doch nicht ganz klar ist, wenn man der Erklärung dieser Vorgänge die Anschauungen Schaudinn's zugrunde legt, was eigentlich bei den Gregarinen als die vegetative Komponente des Kerndualismus anzusehen ist — in ihr nur alles nicht generative Chromatin zusammenzufassen, ist wie die obigen Ausführungen zeigen, doch wohl nicht ganz angängig.

Alles in allem scheint es aber, daß bei den Gregarinen zwei Möglichkeiten verwirklicht sind: es kann die vegetative und generative Komponente des Kerndnalismus in Form typischer Kerne auftreten, oder nur die letztere und dann die erstere in Form eines Chromidiums.

Bildung und Zerstreuung der Sporocysten.

Sofort nach der Befruchtung bildet sich um das Ei die erste Hülle, die sogenannte Exospore, und nach einiger Zeit teilt sich der vorhandene eine Kern in zwei, wahrscheinlich dnrch Mitose, was aber infolge der Hülle nicht mit gleicher Dentlichkeit wie bei den früheren erkannt werden kann. Die Tochterkerne lagern sich jeder an einen Pol der Spore (Fig. 57), nnd teilen sich hier nochmals, worauf eine längere Pause einzutreten scheint, denn diese Stadien sind die häufigsten, die man findet (Fig. 58.) Es bildet sich währenddes die Endospore, und in der Regel beginnt jetzt auch oder hat bereits begonnen die Verfärbung des in seiner Gesamtheit birnförmigen Sporeninhaltes der Cyste, der immer noch den Raum des früheren weiblichen Tieres der Cyste einnimmt. Während der männliche Restkörper bis zum Schluß milchweiß bleibt, färbt sich der Sporenkörper immer

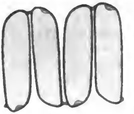
stärker bräunlich, bis er am Ende ganz tief blauschwarz geworden ist. An den einzelnen Sporen selbst kann man diese Färbung dnrchaus nicht wahrnehmen, wohl aber sieht man jede mit einer silberglänzenden Hülle von Luft umgeben, die besonders stark an denen hervortritt, die direkt nnter der Cystenhaut liegen: die Schwarzfärbung wird deswegen wohl als eine Interferenzerscheinung anzusehen sein. Festgestellt ist sie außerdem bisher bei den Dactylophoriden-Gattungen *Rhopalonia*, *Pterocephalus* und *Dactylophora*. Inzwischen hat sich auch die Reifung der Sporozoite im Innern der Sporocyste vollzogen: die beiden Kerne an jedem Pol haben sich nochmals geteilt (Fig 58), nnd um jeden der nunmehr vorhandenen acht Kerne hat sich eine Plasmapartie abgeschnürt, die spindelförmige Gestalt annimmt. Der Kern liegt jedesmal am distalen Pol.

Das Gesetz der Richtung der Teilungsachsen im befruchteten Ei ist so, daß die Axe der ersten Teilnng znsammenfällt mit der längsten Eiaxe selbst, die der beiden Tochterkerne an jedem Pol parallel zueinander etwa um 45° zu ihr geneigt sind, nnd die letzten vier Teilungen nm 90°. In dieser Form scheint es für alle Dactylophoriden zu gelten, ist aber bei anderen Gregarinenformen ganz variabel je nach der schließlichen Lagerung der Sporozoite in der Sporocyste.

Ganz ist das Plasma bei der Bildnng der Sporozoite nicht verbrancht worden, sondern in der Mitte der Sporocyste zwischen den beiden polwärtsgelagerten Bündeln von je vier Sporozoiten liegt ein kugelförmiger Restkörper mit einigen stark lichtbrechenden Tröpfchen im Innern. Ein Tröpfchen von ungefähr demselben Lichtbrechungsvermögen, aber bedentenderer Größe ist dem einen Pol der Endospore angelagert (Fig. 59).

Die Form der ganzen Sporocyste ist im allgemeinen noch immer walzenförmig wie die des Eies, aber an den Enden auf entgegengesetzten Seiten schräg abgerundet; nicht auf diesen abgerundeten Flächen, sondern jedesmal am oberen Ende der geraden Seitenlinie sitzt je ein Tröpfchen von sehr stark klebriger Beschaffenheit, das den Zweck hat, die einzelnen Sporen miteinander zu verkleben: man erinnert sich, wie bei der Bildnng der Eier erwähnt wurde, daß diese sich alternierend ineinander schieben; das erreicht seine Vollendung bei den Sporen (Fig. 28), die durchweg in einzelnen Paketen so angeordnet sind, daß immer abwechselnd einmal oben und dann wieder unten zwei der klebrigen Tröpfchen einander berühren, wie im nachstehenden Schema (Textfig. 3) angedeutet. So wird es ermöglicht, daß sie sich nachher beim Auseinanderziehen in Ketten anordnen.

Die Zerstreuung der Sporen aus der Cyste selbst geht durch einen sehr sinnreichen Mechanismus vor sich, die bereits erwähnte „pseudokyste latéral“, wie sie Léger (1892) in einer Zusammenstellung der verschiedenen Arten der Sporenzerstreuung der Gregarinen nennt. Im ganzen wären nach ihm vier Typen zu unterscheiden, die einfachste bei den Menosporiden, Acanthosporiden und Actinocephaliden, bei denen der Restkörper der Syzygiten zwischen die Sporen verteilt ist und durch Quellung die Hüllen zerreißt; dann die Sporodukte bei den Gregariniden, deren Restkörper sich in Form einer Hohlkugel an die Cystenhülle lagert und dort die sporoduktenbildende Haut um sich ausscheidet. Schließlich in den beiden anderen Fällen die Bildung der Pseudocyste, die bei den Stylorhynchiden in der Weise entsteht, daß der Restkörper des Männchens und Weibchens miteinander zu einer das Centrum der Cyste einnehmenden Kugel verschmelzen und sich mit einer Haut umgeben. Bei den Dactylophoriden dagegen ist an ihrer Bildung nur der kalottenförmige Restkörper des Männchens beteiligt, und die Pseudocyste liegt demnach nicht in der Mitte, sondern seitlich. Ihre eigentümliche Wirksamkeit ist von Léger beobachtet worden bei *Rhopalonia geophili* (1896) und *Pterocephalus nobilis* (1902), die sich beide ganz gleich verhalten sollen.



Textfig. 3.
Schema der Sporenverkettung bei *Echinomera hispida*.

Bei *Echinomera* spielte sich der Vorgang in der Weise ab, daß zunächst die beiden äußeren Cystenhüllen platzten, bewirkt durch die Pseudocyste, die durch Aufnahme der Flüssigkeit zwischen den Sporen so stark aufgequollen war, daß sie die Kalottenform aufgeben mußte, mehr kugelförmig wurde und dabei die Cystenhüllen sprengte. Der Sporenkörper bleibt aber noch an ihr haften, und zwar mit seiner schmaleren Basis in eine kleine tellerförmige Vertiefung derselben eingeklemmt (Fig. 28). Die Pseudocystenhaut hat an dieser Stelle einen bemerkenswerten Bau, wie an Schnitten festzustellen ist: die Ränder des Tellers sind nämlich stark verdickt, am meisten dort, wo sie umgebogen sind. Ich vermute, daß diese Verdickungen irgendwie gegen Feuchtigkeit empfindlich sind, es wird sich wohl ihre äußere durch Platzen der Hüllen mit der freien Luft in Verbindung tretende Schicht durch Austrocknen stark zusammenziehen können und so die immense Kraftentfaltung hervorrufen, die bei der nun erfolgenden Herausstülpung des Tellers den ganzen Sporenkörper wohl 8 cm weit fortschlendern kann. Die

Sporen werden dabei also nicht, wie es bei *Rhopalonia* nnd *Pterocephalus* geschehen soll, in langen Ketten zerstreut, sondern das geht erst an dem irgendwo angeklebten Sporenkörper vor sich, auch in viel geringerem Maße, indem nur einzelne kleine Kettchen aus der Oberfläche des sonst ganz kompakten Sporenkörpers hervorragen. Man wird Léger zustimmen müssen, wenn er diese Kettenbildung auf die Ausdehnung der zwischen den Sporen ausgeschiedenen Lufthülle znrückführt, die, während die Sporen noch in der Cyste lagen, vielleicht stark komprimiert war. Auffällig bleibt aber doch, daß bei *Echinomera* ein selbsttätiges Fortschreiten der Kettenbildung nnd eine immer weiter gehende Auflockerung des Sporenkörpers noch Tage lang anhält.

Für eine noch weitere Verbreitung sorgt wohl das Wirtstier selbst, seine beständig tastenden Antennen vermögen bei der leisesten Berührung des Sporenkörpers lange Ketten darans hervorzuziehen, und da der *Lithobius* die Gewohnheit hat, sie sehr häufig mit den Mnndwerkzengen zu reinigen, gelangen sie ohne Schwierigkeiten anch in den Darm.

Dort werden die Sporozoite frei, nicht indem sich die Hüllen nnter Einwirkung des Darmsaftes anflösen, wie man früher allgemein annahm, sondern zunächst springt die Exospore an einem Pol zu zwei Schalen auseinander, die am anderen Pol noch zusammenhaften (Fig. 60). Das kann man ohne Schwierigkeit beobachten, wenn man die Sporocysten in die Darmflüssigkeit des getöteten *Lithobius* bringt, aber weiter spielt sich darin der Vorgang nie ab. Das stellte auch Léger bei den von ihm nntersuchten Formen fest: das Ausschlüpfen der Sporozoite erfolgt nur im Darm selbst, den man bei *Pterocephalus* schon nach etwa 5 Minuten öffnen muß, wenn man es beobachten will. Bei *Echinomera* gelang mir das nicht, man kann die lebenden Sporozoite bei ihrer Kleinheit — 4,3 bis 4,5 μ gegen 10 bis 11 μ bei *Pterocephalus* — im Darmsaft nie entdecken; der Vorgang wird aber wohl in derselben Weise verlaufen wie bei letzterer Art. Ist die Endospore frei geworden, so tritt erst ein helles Tröpfchen aus dem einen Pol hervor — wohl dasselbe, das an dem einen Pol der Sporocysten von *Echinomera* immer zu sehen ist — und schafft so einen Ausgang, den die Sporozoite einer nach dem anderen benutzen. Sie irren nicht lange im Darm umher — bei *Stylorhynchus* kann das z. B. bis zu fünfzehn Tagen danern. Nach etwa einer Stunde haben sie vielmehr alle ihren definitiven Platz am Darmepithel erreicht, um dann den Entwicklungscyklus von nenem zu beginnen, der im Anfang der Arbeit beschrieben ist.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, den Dank, den ich Herrn Prof. Dr. E. Korschelt in so außerordentlichem Maße schuldig bin, hier auszusprechen. Ebenso sage ich den Herren Privatdozent Dr. Meisenheimer und Dr. Tönniges für Ihr förderndes Interesse meinen Dank.

Marburg, Dezember 1906.

Literaturverzeichnis.

Berndt, A: Beitrag zur Kenntnis der im Darm der Larve von Tenebris molitor lebenden Gregarinen. Arch. f. Protistenk. Bd. I Heft 3 1902.

Brasil, L.: Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polychètes. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. II 1904.

—: Recherches sur la réproduction des Grégarines monocystidées. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. III 1905.

Bütschli: Protozoa in Bronn's Klassen und Ordn. des Tierreichs 1880—1882.

Caullery et Mésnil: Sur une Grégarine coelomique présentant dans son cycle évolutif une phase de multiplication asporulée. Comptes Rend. de la Soc. de Biol. Vol. 50 1898.

— —: Sur quelques parasites internes des Annélides. Travaux de la Stat. zool. Wimereux (Miscellan. dédiees an Prof. A. Giard). Paris 1899.

— —: Sur un mode particulier de division nucléaire chez les Grégarines. Arch. d' Anat. microsc. Vol. 3 1900.

Cecconi, J.: 'De la Sporulation de Monocystis agilis. Arch. d'Anat. microsc. Vol. 5 1902/3.

Cuénot, L.: Evolution des Grég. coelomiques du Grillon domestique. Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. de Paris Vol. 125 1897.

—: L'épuration nucléaire au debut de l'ontogénése. Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. de Paris Vol. 125 1897.

—: Recherches sur l'évolution et la conjugaison des Grégarines. Arch. de Biol. Vol. XVII 1901.

Crawley, H.: The progressiv Movement of Gregarines. Proceed. of the Acad. of Natural Sci. Philadelphia 1902.

Dogiel: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. I. Cystobia chiridotae. Arch. für Protistenk. Bd. VII Heft 1 1906.

Drzewecki: Über veget. Vorgänge im Kern und Plasma der Greg. des Regenwurmhodens. Arch. für Protistenk. Bd. III 1904.

Laveran et Mésnil: Sur quelques particularitées de l' évol. d'une Grégarine. Compt. Rend. de la Soc. de Biol. Paris Vol. LII 1900.

Léger, L.: Thèses présentées à la Fac. des Sci. de Paris 1892.

—: Sur quelques types nouveaux de Dactylophorides de la Région méditerranéenne. Travaux de la Stat. zool. de Wimereux (Miscell. biol. dédiées an Prof. A. Giard) 1899.

—: La réproduction sexuée chez les Stylorhynchus. Arch. für Protistenk. Bd. III 1904.

Léger et Duboscq: Grégarines et l'Epithélium intestinal chez les Trachéates. Arch. de Parasitologie Vol. VI 1902.

— —: Les éléments sexuels et la fécondation chez les Pterocephalus. Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. de Paris Vol. 134 1902.

— —: Recherches sur les Myriapodes de Corse et leurs Parasites. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. I 1903.

— —: La réproduction sexuée chez Pterocephalus. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. I Notes et Revue 1903.

— —: Nouvelles Recherches sur les Grégarines et l'Epithelium intestinal des Tracheates. Arch. für Protistenk. Vol. IV 1904.

— —: Sur l'evolution des Grégarines gymnoporées des Crustacés. Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences de Paris Vol. CXLII No. 22 1906.

— —: L'évolution d'une Aggregata de la Seiche chez le Portunus depurator. Compt. Rend. de la Societé de Biologie Vol. LX No. 22 1906.

Lühe, M.: Bau und Entwicklung der Gregarinen. Arch. für Protistenk. Vol. IV 1904.

Marshall, W. S.: Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. Arch. für Naturgesch. 59 I 1893.

Moroff, Th.: Sur l'évolution des prétendues Coccidies des Céphalopodes. Compt. Rend. de l'Acad. des Sciences de Paris Vol. CXLII No. 11 1906.

—: Bemerkungen über den Kern der Aggregata Frenzel. Zool. Anzeiger Vol. 31 1907.

—: Untersuchungen über Cocc. Arch. für Protistenk. Vol. VIII Heft 1 1906.

Mrázek, M.: Studia o Sporozoich J. Dèleni jaderné a sporulace Gregarin. Vorläuf. Mitteil. in Sitzungsber. k. böhm. Ges. Wiss. 1899 No. 35.

Nussbaum, J.: Über die geschlechtl. Fortpfl. einer im Darmkanale von Henlea leptodera Vejd. schmarotzende Gregarine Schaudinnella henleae mihi. Zeitschr. für wissensch. Zoologie Vol. LXXV Heft 2 1903.

Pähler, F.: Morphologie, Fortpfl. und Entwickl. von Gregarina ovata. Arch. für Protistenk. Bd. IV 1904.

Prowazek, S.: Zur Entwicklung der Gregarinen. Arch. für Protistenk. Bd. I 1902.

Prandtl, H.: Konjugation von Didinium nasutum. Arch. für Protistenk. Bd. VII Heft 1 1906.

Schaudinn, F.: Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. Zool. Jahrb. Bd. XIII Heft 2 1900.

—: Neuere Forschungen über die Befruchtung bei Protozoen. Verhandl. der deutsch. zool. Gesellschaft 1905.

Schneider, A.: Sur quelques points de l'histoire de genre Gregarina. Arch. de Zool. exp. et gén. 1873.

—: Contribution à l'histoire des Grégarines des Invertébr. à Paris et Roscoff. Arch. de Zool. exp. et gén. 1875.

Schnitzler, H.: Über die Fortpflanzung von Gregarina ovata. Arch. für Protistenk. Bd. VII 1905.

Siedlecki, M.: Über die geschlechtl. Vermehrung der Monocystis ascidiae. Bull. intern. Acad. Sci. de Cracovie 1899.

—: Über die Bedeutung des Karyosoms. Bull. intern. Acad. Sci. de Cracovie 1905.

Woodcock, H. M.: On Cystobia irregularis. Arch. de Zool. exp. et gén. Série IV Vol. II 1904.

Wolters, M.: Die Konjugation und Sporenbildung bei den Gregarinen. Arch. für mikrosk. Anatomie Bd. XXXVII 1891.

Tafelerklärung.

Tafel IX.

Fig. 1—9. Ontogenie von *Echinomera hispida*. Konservierung: Flemming-sche Lösung. Färbung: Eisenhämatoxylin mit Bordeauxrot. Vergr. ca. 2350.

Fig.	Beschreibung	Alter
Fig. 1.	Festsetzen des Sporozoiten an das Darmepithel.	1 und 15 Stunden.
Fig. 2.	Entstehung des Karyosoms.	15 "
Fig. 3.	Entstehung des Epimerits und gleichzeitige Kernwanderung.	15 "
Fig. 4.	"	60 "
Fig. 5.	"	109 "
Fig. 6.	"	185 "
Fig. 7.	"	etwa 10—11 Tage.
Fig. 8.	"	2 Wochen.
Fig. 9.	Entstehung des Protomerits.	3 "

Fig. 10. Fig. 11. Reife Gregarinen mit chromatoiden Plasmaeinschlüssen. Konservierung: Hermann'sche Lösung. Vergr. 650.

Fig. 12. Fig. 13. Fig. 14. Kerne der reifen Gregarinen. Konservierung: Flemming'sche Lösung. Vergr. 1000.

Fig. 15. Epicytstreifen der Gregarine. Flemming'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 16. Fig. 17. Fig. 18. Chromatoide Plasmaeinschlüsse. Konservierung: Flemming'sche Lösung. Vergr. 650.

Fig. 19. Kern einer Gregarine kurz vor der Encystierung. Konservierung: Hermann'sche Lösung. Vergr. ca. 900.

Fig. 20. Kern einer Gregarine während der Encystierung. Konservierung: Zenker'sche Lösung. Vergr. ca. 900.

Fig. 21. Karyosomveränderungen vor der ersten Mitose. Konservierung: Zenker'sche Lösung. Vergr. 1000.

Tafel X.

Fig. 22—28. Gesamtübersicht über die Entwicklung der Gameten in der Cyste. Konservierung mit Flemming'scher, Zenker'scher oder Duboscq'scher Lösung. Vergr. 200.

Fig. 29. Kern mit Mikronukleus und Karyosomrestkörper. Zenker'sche Lösung. Vergr. 1000.

Fig. 30. Erste Mitose (kombiniert aus 2 Schnitten). Zenker'sche Lösung. Vergr. 1000.

Fig. 31. Attraktionskonus mit Centrosom. Fig. 32. Teilung derselben. Konservierung: Subl.-Alkohol-Eisessig. Vergr. ca. 2850.

Fig. 33. Junger Tochterkern. Konservierung: Subl.-Alk.-Eisessig. Vergr. 2350.

Fig. 34. Ausströmungen von Chromatin aus dem Karyosom. Konservierung: Subl.-Alkohol-Eisessig. Vergr. 2350.

Fig. 35. Mitose. Konservierung: Subl.-Alkohol-Eisessig. Vergr. 2350.

Fig. 36—49. Mitosen der Tochterkerne — Auflösung des Karyosoms und Neuentstehung desselben aus dem unpaaren Chromosom. Konservierung: Duboscq's Lösung. Vergr. 2350.

Tafel XI.

Fig. 50. Vorstadien der Eibildung. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 51. Vorstadien der Eibildung. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 52, 53. Fertiges Ei. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 54. Reduktion des Karyosoms. Konservierung: HERMANN'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 55. Ei mit Spermatozoid. Konservierung: HERMANN'sche Lösung. Vergrößerung 2350.

Fig. 56. Ei nach der Befruchtung. Konservierung: DUBOSCQ's Lösung. Vergrößerung 2350.

Fig. 57. Sporocyste mit 2 Kernen. Konservierung: ZENKER'sche Lösung Vergr. 2350.

Fig. 58. Sporocyste mit 4 Kernen. Konservierung: FLEMMING'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 59. Sporocyste mit 8 Sporozoiten und dem Restkörper. Kombiniert nach dem Leben und nach Schnitten. Vergr. 2350.

Fig. 60. Aufspringen der Exospore im Darmsaft. Vergr. 1200.

Fig. 61. Sporenketten. Nach dem Leben.

Fig. 62. Im männlichen Plasmakörper befindliche Vorkerne der Spermatozoide. Konservierung: ZENKER'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 63. Im männlichen Plasmakörper zurückgebliebene Spermatozoide. Konservierung: HERMANN'sche Lösung. Vergr. 2350.

Fig. 64 a—f. Spermatozoide in der Entwicklung. Anstrich konserviert in ZENKER'scher Lösung. Vergr. 2350.

Recherches sur les bactéroïdes des Blattides.

Par

L. Mercier

Chef des Travaux de Zoologie à la Faculté des Sciences de Nancy.

(Avec planches XII et XIII.)

Première Partie.

Les Cellules à Bacillus Cuenoti du tissu adipeux de Periplaneta orientalis L.

Si l'on examine des coupes de corps adipeux de Blatte (*Periplaneta orientalis* L.), après fixation au sublimé, on constate que ce tissu est formé de trois sortes de cellules: des cellules adipeuses, des cellules à urate de soude, et enfin, occupant le centre des lobes, des cellules bourrées de petits bâtonnets colorables électivement par certains colorants.

Blochmann signala le premier (1887) la présence de ces bâtonnets dans les tissus et les œufs de différents Insectes et en particulier de la Blatte; aussi ces éléments sont-ils souvent désignés sous le nom de corps de Blochmann. Cet auteur insiste sur la grande ressemblance qui existe entre ces éléments figurés et des Bactéries; dans un second mémoire (1892) il semble les considérer comme des Bactéries symbiotiques. Forbes (1892) se range aussi à cette manière de voir, mais il n'a pu, ainsi que Blochmann, réussir à les cultiver.

Pour d'autres savants: Cuénot (1892), Henneguy (1904), Prenant (1904), les corps de Blochmann sont des formations cyto-

plasmiques qu'ils rapprochent des cristalloïdes connus dans certaines cellules végétales ou animales. En raison de la forme spéciale de ces cristalloïdes rappelant à s'y méprendre celle de Bactéries, ces auteurs leur donnent le nom de **bactéroïdes**, et aux cellules qui les renferment celui de **cellules à bactéroïdes**.

Dans une courte note (1906, b), j'ai annoncé que j'avais obtenu des cultures pures des corps de Blochmann, et que par conséquent ces éléments sont bien des Bactéries.

J'ai donné à ce Bacille de la Blatte le nom de *Bacillus cuenoti* n. sp., le dédiant à mon Maître, Monsieur le Professeur Cuénot.

J'étudierai dans ce mémoire, les caractères des Bactéries de la Blatte commune:

1°: chez des Blattes adultes (chez des animaux normaux et chez des animaux se trouvant dans de mauvaises conditions de vie);
2°: dans l'œuf et dans l'embryon;
3°: dans des cultures pures obtenues en partant de la Blatte.

Bacillus cuenoti chez la Blatte.

Blochmann (1892) décrit ses bactéroïdes comme des bâtonnets présentant un espace clair central et dont la longueur varie entre 6 et 8 μ; beaucoup sont courbés en s. Ils se colorent bien par les couleurs d'aniline et gardent le Gram. Blochmann a observé souvent des groupes de deux bâtonnets disposés bout à bout, ce qui lui fait admettre que ces éléments se multiplient par division. Il en a trouvé fréquemment qui présentent un renflement à une extrémité. leur aspect est alors comparable à celui de certains Bacilles à spores.

Je crois devoir faire quelques réserves au sujet des caractères que Blochmann donne comme caractères généraux de ses bactéroïdes. A cet effet, j'ai étudié ces corps chez des Blattes maintenues dans des conditions biologiques différentes:

1°: chez des Blattes se trouvant dans des conditions normales;
2°: chez des Blattes soumises à une longue inanition;
3°: chez des Blattes parasitées.

J'ai constaté qu'il existe des différences nettement marquées dans l'aspect des Bacilles de la Blatte suivant qu'on les étudie chez des animaux appartenant à l'un ou l'autre de ces trois lots.

Blattes dans des conditions normales.

J'ai étudié les Bacilles sur des coupes de corps adipeux et sur des frottis.

Sur les coupes, les cellnles à Bacilles se montrent bonrrées de ces éléments qui sont orientés dans tontes les directions, enchevêtrés les uns dans les autres. Le cytoplasme des cellules est complètement masqné, cependant le noyau se voit très nettement et présente des particularités de forme et de structure sur lesquelles j'aurai à revenir.

Les Bacilles offrent certaines réactions colorantes propres au noyau. C'est ainsi qu'après coloration à l'hématoxyline ferrique, ils restent électivement colorés. En raison du nombre considérable de ces éléments dans les cellules, la méthode des coupes n'est pas favorable à leur étude. Celle-ci doit être faite sur des frottis.

Si l'on colore par le violet de gentiane ou le bleu de méthylène phéniqué des frottis de corps adipenx fixés par l'un des procédés en usage en bactériologie: chalenr, sublimé, alcool-éther, les Bacilles se présentent sous l'aspect de bâtonnets à structure grannlense, à extrémités arrondies, dont la longueur varie entre 4 μ et 8 μ (fig. 6). Beaucoup de ces bâtonnets sont très fortement arqnés et qnelques-uns même courbés en **s**; certains sont disposés en assez longs filaments. J'ai rencontré fréqnemment des Bacilles en voie de division (b, fig. 6).

Il importe, pour observer les Bacilles avec ces caractères, de les étudier chez des Blattes bien nourries. En effet chez des animaux se trouvant dans des conditions de vie défavorables, ces microorganismes se présentent avec des caractères très différents de ceux que je viens d'exposer.

Blattes maintenues en inanition.

C'est ainsi qne chez des Blattes maintennes plusieurs jours dans un état d'inanition complet, les Bacilles se présentent sons forme de bâtonnets dont la longuenr varie entre 3 μ et 5 μ (fig. 7), les formes les plus courtes étant les plus abondantes. Les extrémités des bâtonnets se colorent d'une façon intense, tandis que la région centrale ne prend que faiblement les colorants et constitue une zone claire. Beaucoup de Bacilles présentent, à nne extrémité, nn renflement ovoïde, plus large que l'élément (b_3, fig. 7); ils ont alors la forme de baguettes de tambour, aspect qne prennent certains Bacilles à spores. On rencontre aussi fréquemment chez ces Blattes des Bacilles en voie de division (b, b_1, fig. 7).

Blattes parasitées.

J'ai signalé (1906, a) l'existence d'un organisme à forme levure parasite de la Blatte.

Les Blattes infectées par cette levure constituent nn matériel de choix pour l'étude des Bacilles en place dans les cellules.

En effet comme le montre la figure 5, les Bacilles disparaissent, chez les Blattes parasitées, an fur et à mesure que progresse l'envahissement dn tissu adipenx par la levure. Ils ont complètement disparn des denx cellules C_1 et C_2; dans la cellnle C_3 ils sont en voie de disparition, et beaucoup moins nombreux que dans une cellule normale. Lenr petit nombre permet de se rendre compte de certaines particularités. Ces éléments ont la forme de très courts bâtonnets à espace clair central; lenr aspect est celui des Bacilles proveuant de Blattes maintenues en inanition. Dans cette même cellule C_3, on voit des Bacilles (b_1, b_2) en voie de division, fait que l'on ne pent constater que snr des frottis, chez des Blattes non parasitées.

La figure 14 représente une autre cellule à Bacilles de la même Blatte. Les microorganismes y sont plus nombreux que dans la cellule précédente et j'ai seulement représenté ceux qui se trouvent sur un même plan. On voit sur cette figure, dans une même cellule, des formes courtes à côté d'éléments de grande taille. Certains de ces grands éléments, disposés bout à bout forment d'assez longs filaments (f_1, f_2), analogues à cenx dont j'ai constaté la présence sur des frottis de corps adipeux de Blattes se tronvant dans des conditions de vie normales.

L'étude des cellules à Bacilles chez des Blattes parasitées par l'organisme à forme levure permet donc de se rendre compte de certaines particularités morphologiqnes de ces éléments en place dans les cellules; en même temps, elle permet anssi de saisir le passage des formes longues que l'on rencontre chez les Blattes bien nourries, anx formes courtes que l'on observe chez l'es animanx maintenus en inanition.

Les Bacilles dans l'œuf et dans l'embryon.

Les Bacilles existent non seulement dans le tissu adipeux des Blattes adultes, mais on les trouve aussi dans l'œuf et dans l'embryon où ils ont été signalés par Blochmann (1887—1892), Henneguy (1904) et par Wheeler (1892) chez *Blatta germanica.*

Les bactéroïdes décrits par Blochmann (1892) formeraient tout d'abord une conche continue à la surface de l'œuf; ensuite ils s'épandraient dans le cytoplasme. Cet auteur n'a jamais constaté, chez la Blatte, la présence de ces éléments dans les cellules folliculaires, tandis qu'au contraire chez *Camponotus* certaines de ces cellules en seraient bourrées.

Chez de jennes embryons, Blochmann a retrouvé ses bactéroïdes entre les cellules du blastoderme, dans les lacunes formées par suite de la liquéfaction du vitellus. Il fait remarquer à ce sujet que ponr Cholodkowsky (1891) qui a étndié le développement de *Phyllodromia* et a observé également dans l'embryon des corpuscnles semblables à des Bactéries, ces éléments ne sont pas libres, mais contenus dans les cellnles vitellines.

Suivant ses bactéroïdes dans le conrs de l'évolution de l'embryon, Blochmann les retrouve à l'intérienr des cellules de l'ébauche du corps adipeux. Ils demeurent localisés dans les cellules centrales; et lorsqne les cellules de ce tissu s'organisent en lobes, les cellnles à bâtonnets occnpent toujours le centre des lobes.

J'ai vérifié les faits avancés par Blochmann, et j'ai constaté la présence des Bacilles dans l'œuf et dans l'embryon de *Periplaneta orientalis* sur des coupes et sur des frottis.

La figure 1 représente une portion d'une coupe sagittale d'un très jeune œuf de Blatte dans lequel on ne voit pas encore d'enclaves vitellines. Les Bacilles forment une zone continue comprise entre les cellules folliculaires (c, f) et la membrane vitelline (m). En un point, ces microorganismes sont rassemblés en un amas volumineux (a) qui refoule les cellules folliculaires et la membrane vitelline. J'ai retrouvé également cette couche continne de Bacilles sur des coupes perpendiculaires au grand axe de l'œuf.

Blochmann dit n'avoir jamais constaté, chez *Periplaneta orientalis*, la présence de ses bactéroïdes dans les cellules folliculaires; or, souvent j'ai vu de ces cellules littéralement bourrées de Bacilles.[1])

A ce stade du développement de l'œnf, je n'ai jamais vu de Bacilles à l'intérieur même de celui-ci. Ce n'est que plns tard (fig. 2), alors que l'œuf renferme déjà de grosses granulations vitellines, qne l'on tronve ces microorganismes disséminés entre les enclaves de réserve. Je n'ai pu saisir le processns dn passage des Bacilles an travers de la membrane vitelline.

[1]) Je vieus de signaler la présence de cellules à *Bacillus cuenoti* dans la tunique péritonéale des gaines ovariques de la Blatte. (C. R. Soc. Biol. T. LXII p. 758 1907.)

Les Bacilles, dans l'œuf, ont le même aspect que chez les Blattes maintenues en inanition. Ce sont de courts bâtonnets avec espace clair central et dont les extrémités arrondies se colorent fortement. Sur des frottis, on observe fréqnemment des Bacilles en voie de division.

J'ai pu facilement retrouver, sur des coupes et sur des frottis, les Bacilles dans des embryons pris dans des oothèques au moment où celles-ci, cessant d'occuper nne position verticale à l'entrée de la vulve, deviennent horizontales. Les Bacilles sont rassemblés, ainsi que le représente la figure 3, en un amas volumineux occupant un système de lacunes formées par suite de la liquéfaction du vitellus. La figure 4, qui correspond à la région A de la figure précédente étudiée à un grossissement snpérieur, montre que dans l'embryon, les Bacilles se présentent avec les mêmes caractéres morphologiques que dans l'œuf.

Pour terminer cette étude de *Bacillus cuenoti* chez la Blatte, j'ai recherché comment il se comporte vis-à-vis de certaines méthodes de coloration spéciales. J'ai constaté, après Blochmann, qu'il garde le Gram. Par ce procédé, de coloration on peut réaliser, comme le montre la figure 12, des préparations où les cellules à Bacilles sont mises en évidence d'une façon très démonstrative.

Par contre, si le Bacille garde le Gram, il n'est pas acido-résistant.

Bacillus Cuenoti dans les cultures.

Mise en culture.

La présence des Bacilles dans l'embryon m'a permis de faire des prélèvements aseptiques de ces éléments et d'essayer leur mise en culture. En effet, les embryons de *Periplaneta orientalis* sont enfermés dans une capsule cylindrique, l'oothèqne, vulgairement appelée œuf de Cafard. Cette capsule reste suspendue plusieurs jours, à l'entrée de la vulve, avant d'être déposée.

Les embryons sont disposés dans l'oothèque en deux séries parallèles et baignent dans nn liqnide absolument transparent.

Je me suis assuré par de mombreux prélévements que ce liquide ne renferme aucnn Bacille. Cette observation a son importance pour ce qui va suivre. En effet, le liquide de l'oothèque pourrait très bien être contaminé par suite de l'existence de Bacilles dans l'ovi-

ducte. C'est ainsi, par exemple qu'Artaud (1893) a constaté la présence du Bacille pyocyanique dans un œuf de poule; le Bacille venait certainement de l'oviducte.

J'ai, en outre, vérifié expérimentalement l'asepsie du liquide de l'oothèque de la façon suivante.

J'ai flambé l'une des extrémités d'une oothèque, et, en ce point, j'ai fait pénétrer la pointe d'une pipette stérilisée à l'intérieur de l'oothèque maintenue horizontalement. Dans ces conditions, si l'on ensemence un tube de bouillon ordinaire avec la goutte du liquide transparent, qui monte dans la pipette, ce tube reste stérile.

Au contraire, si avec la pointe de la pipette, on écrase les embryons renfermés dans l'oothèque, on obtient, en ensemençant un tube de bouillon ordinaire avec le contenu de la pipette, une culture pure d'un Bacille, *Bacillus cuenoti*.

J'ai répété cette série d'expériences une quarantaine de fois environ. J'ai obtenu des résultats constants, à condition d'opérer sur des oothèques en bon état, et prélevées alors qu'elles sont encore fixées à la vulve.

Caractères des cultures.

Culture sur gélose. Ensemencé en strie à la surface de la gélose en tube incliné, *Bacillus cuenoti* donne naissance après douze heures de séjour à l'étuve à 30° C à de petites colonies mamelonnées. Ces colonies à contour sinueux sont constituées d'une tache centrale opaque entourée d'une zone périphérique claire finement striée.

Rapidement, ces colonies deviennent confluantes et, au bout de vingt-quatre heures à l'étuve la culture forme une bande blanc-jaunâtre. Le jour suivant, la culture s'étend, les bords de la bande sont irréguliers, finement striés suivant une direction perpendiculaire à celle de la strie d'ensemencement; cet aspect est dû à ce que le Bacille forme de longs filaments.

Bientôt, toute la surface de la gélose est couverte par la culture; celle-ci, en vieillissant, devient couleur mastic. La surface des vieilles cultures présente de petits plis, très fins. Jamais l'enduit ne montre de tendance à couler au fond du tube, celui-ci étant maintenu verticalement. Le développement se fait également bien à la température de la salle, mais il est un peu plus lent.

Culture sur gélatine. — La gélatine (120 g. de gélatine pour 500 g. de bouillon) est rapidement liquéfiée à la température ordinaire. Ensemencé en strie, le Bacille donne, au bout de vingt-

quatre heures, une bande translucide qui, le lendemain, s'étend sur toute la snrface de la gélatine. Les caractères des cnltures isolées sont les mêmes que sur gélose. Vers le troisième ou le quatrième jour après l'ensemencement, la liquéfaction commence. Le liquide qui en résulte, et dans lequel flottent des flocons grisâtres, reste clair. Jamais je n'ai observé de dégagement de bulles gazeuses.

En piqure, la culture se développe tout le long de la strie d'ensemencement et s'étale à la surface libre de la gélatine. Ce développement se fait en trois ou qnatre jonrs, puis la liquéfaction commence le long de la strie et pen à peu gagne toute la masse.

Les cultures sur gélatine examinées à la lumière sous une certaine incidence présentent de magnifiqnes reflets nacrés.

Culture sur pomme de terre. — Le développement se fait surtout bien sur pomme de terre glycérinée (variété dite: rognon rose).

Le long de la strie d'ensemencement, à 30°, il se développe une bande blanc-jaunâtre, d'aspect glacé, de consistance gélatinense, qui bientôt recouvre toute la surface de la pomme de terre. A la longue, la teinte de la culture devient brunâtre. Jamais la culture n'est très abondante et ne présente de plis.

A la surface du liquide glycériné dans lequel baigne la pomme de terre, il se forme, au bout de douze heures un voile qni, à la moindre secousse, tombe au fond du tube. Il se produit dans le liquide un abondant dégagement de bnlles gazeuses.

Les vieilles cultures sur pomme de terre glycérinée dégagent une odeur assez agréable, difficile à caractériser. Cette odeur existe aussi, mais moins prononcée, dans les cultures sur gélose et sur gélatine. La pomme de terre noircit au bout d'un temps assez long.

Cultnre snr lait. — A 30° C du lait de vache (lait écrémé et stérilisé 20 m à 108 dans des ballons de 500 ccm à moitié remplis, contrôlés 8 jours à l'étuve) est coagulé en trois jours. La caséine est précipitée sons forme d'un coagulum très fin. Un voile très fragile se développe à la surface du liquide qui surmonte le coagulum; ce liquide, trouble au début, jaunit, puis s'éclaircit et prend une teinte brunâtre.

Sur lait additionné de carbonate de calcium, le développement de la culture est identique; d'où nons pouvons conclure que la précipitation de la caséine a lieu par présure. A la longue, il y a peptonisation de la caséine.

Culture en bouillon ordinaire. — Au bout de douze heures à l'étuve à 30° C, le liquide se tronble. Vingt-quatre heures

après l'ensemencement, il se forme un voile épais, uni, à la surface du liquide. Ce voile ne grimpe pas après la paroi du tube, il est très fragile, se détache à la moindre secousse et tombe au fond du tube.

Au bout de huit jours, le liquide s'éclaircit et prend une coloration brunâtre; au fond du tube il s'est formé un dépôt abondant constitué surtout par des spores.

Caractéres morphologiques du Bacille.

Formes. Dimensions. Arrangement. Structure.

Examiné dans une goutte de bouillon de culture ou de solution salée physiologique, *Bacillus cuenoti* se présente avec les caractéres suivants:

1°: Dans le voile des cultures en bouillon ordinaire, dans les cultures en surface sur milieux solides: gélatine, gélose, pomme de terre, c'est un Bacille de 4 à 8 μ de longueur droit ou arqné, quelquefois courbé en **s**; il donne de longs filaments. Les extrémités des bâtonnets sont arrondies; le cytoplasme incolore renferme de nombreuses granulations.

2°: Dans le liquide sous-jacent au voile des cultures en bouillon, *Bacillus cuenoti* se présente sous forme de courts bâtonnets de 3 à 5 μ de longueur. Les extrémités arrondies de ces bâtonnets sont plus sombres que la région centrale.

Coloration par les réactifs.

Après fixation par la chaleur ou par l'alcool-éther, les Bacilles se colorent facilement par des solutions dans l'eau distillée phéniquée de violet de gentiane (fig. 8, 10), de fuchsine. Les préparations les plus fines sont obtenues par le bleu de méthylène.

Bacillus cuenoti garde le Gram, mais il n'est pas acido-résistant.

Flagella. — Le Bacille est mobile. J'ai recherché les flagella par la méthode de Benignetti et Gino (1906). Cette méthode d'une très grande simplicité m'a donné d'excellents résultats. Je l'ai essayée comparativement sur un Colibacille et sur *Bacillus cuenoti*, dans les deux cas, j'ai obtenu des images de flagella d'une très grande netteté. *Bacillus cuenoti* est péritriche (fig. 9).

Spores. — Le microorganisme donne des spores; ces spores sont ovoïdes. Dans les cultures en bouillon, elles forment un dépôt abondant au fond des tubes de culture. Les Bacilles en voie de sporulation prennent, dans certaines conditions, la forme dite en

épingle ou en baguette de tambour, les spores se développant aux extrémités des bâtonnets et étant plus larges que ceux-ci. La coloration spécifique des spores à la fuchsine de Ziehl, faite sur des frottis provenant de vieilles cultures sur pomme de terre, donne des préparations très démonstratives (fig. 11).

Bacillus cuenoti, par ses caractères morphologiques et les caractères des cultures, peut-être rapproché, momentanément tout au moins, de l'un ou l'autre des trois genres suivants: *Mesentericus, Subtilis, Tyrothrix.*

Il m'a paru intéressant de rapprocher les différents aspects que prend *Bacillus cuenoti* chez la Blatte, de ceux qu'il présente dans les cultures.

Dans les conditions biologiques les plus favorables: Blattes bien nourries et non parasitées, voile de cultures et cultures en surface, *Bacillus cuenoti* se présente sous forme de longs bâtonnets de 8 μ de longueur, à extrémités arrondies. Ces bâtonnets sont souvent arqués; ils peuvent rester unis et former de longs filaments.

Dans des conditions biologiques moins favorables: conditions qui sont réalisées dans l'œuf, dans l'embryon, chez des Blattes parasitées et chez des Blattes maintenues en inanition, dans le liquide sousjacent au voile des cultures en bouillon, *Bacillus cuenoti* se présente comme un Bacille court, à espace clair central, de 3 à 5 μ de longeur, dont les extrémités arrondies se colorent fortement.

Enfin, dans certaines conditions, chez les Blattes maintenues en inanition et dans les vieilles cultures, on rencontre des Bacilles en forme de baguettes de tambour.

Bacillus cuenoti chez la Blatte et dans les cultures garde le Gram et n'est pas acido-résistant.

Une question qui se pose naturellement est la suivante: Quel est le rôle de *Bacillus cuenoti* dans l'organisme de la Blatte? Y a-t-il symbiose ou parasitisme?

Pour l'instant, je ne répondrai pas à cette question qui nécessite des recherches délicates d'un ordre tout spécial;[1]) mais je signalerai ce fait: les cellules à *Bacillus cuenoti* se multiplient par division directe ainsi que le montrent les figures 14 et 15.

---

[1]) Monsieur Gault, Docteur ès-sciences, Préparateur à l'Institut chimique, veut bien nous apporter sa précieuse collaboration pour les recherches à effectuer dans cet ordre d'idées.

Lorsqu'on examine des conpes de tissn adipenx provenant d'une Blatte normalement nourrie, l'attention est attirée par ce fait. Dans certains lobes, les cellnles à Bacilles sont peu nombreuses et de grande taille (fig. 14); leur noyan très volumineux affecte nne forme très irrégulière (n).

Dans d'autres lobes, au contraire, ces cellules sont très nombreuses, mais de petite taille et présentent nn noyau de forme très régulière.

J'ai trouvé tons les intermédiaires entre les grandes cellules à *Bacillus cuenoti* et les petites cellules. Celles-ci dérivent des premières à la snite d'un processns de mnltiplication qni s'effectne par division directe.

La fignre 15 représente nne grande cellule à Bacilles dont la division est presque terminée; l'arrangement des Bacilles le long de l'ébauche de la cloison cellulaire (s) est nettement marqné.

Cette croissance et cette multiplication des cellnles à *Bacillus cuenoti* permettent de snpposer qne ces cellnles ne sont nullement atteintes dans leur vitalité.

Index bibliographique.

1893 Artaud: Le Bacille pyocyaniqne dans un œnf de Poule. C. R. Soc. Biol. p. 78.

1906 Benignetti et Gino: Die una vantaggiosa modificazione al metodo del Pitfield. Riv. d'Ig. e San. pub. T. XVII fig. 9 p. 276.

1887 Blochmann: Über das regelmäßige Vorkommen von bakterienähnlichen Gebilden in den Geweben und Eiern verschiedener Insekten. Zeitschr. f. Biol. Bd. XXIV p. 1.

1892 —: Über das Vorkommen von bakterienähnlichen Gebilden in den Geweben und Eiern verschiedener Insekten. Centralbl. f. Bakteriol. u. Parasitenk. T. 11 p. 234.

1891 Cholodkowsky: Die Entwicklung von Phyllodromia germanica. Mém. de l'Académie des Sciences de St. Pétersbourg (7) T. XXXVIII No. 5.

1892 Cuénot: Etudes physiologiques sur les Orthoptères. Arch. de Biol. T. XIV p. 293.

1892 Forbes: Bacteria Normal to digestive organs of Hemiptera. Bull. of the Illinois State Laboratory of Natural History Art. I V. IV p. 1.

1904 Henneguy: Les Insectes. Paris.

1906a Mercier: Un organisme à forme levure parasite de la Blatte (Periplaneta orientalis L.). Levure et Nosema. C. R. Soc. Biol. T. LX p. 1081.

1906b —: Les corps bactéroïdes de la Blatte (Periplaneta orientalis): Bacillus Cuenoti (n. sp. L. Mercier). C. R. Soc. Biol. T. LXI p. 682.

1904 PRENANT: Traité d'histologie. A. PRENANT, P. BOUIN et L. MAILLARD. T. I. Cytologie générale et spéciale. (Paris, Schleicher.)

1892 WHEELER: The Embryology of Blatta Germanica and Doryphora Decemlineata. Journ. of Morphology Vol. III No. 2 p. 291.

Explication des planches.

Planche XII.

Fig. 1. Portion d'une coupe sagittale d'un œuf ovarien de Blatte. — ZENKER. Hématoxyline ferrique. — *c. f* cellules folliculaires. *m* membrane vitelline. *a* amas de Bacilles. × 600.

Fig. 2. Portion d'une coupe transversale d'un œuf de Blatte. — ZENKER. Hématoxyline ferrique. La figure II représente un œuf à un stade plus avancé que celui dessiné figure I. Les Bacilles *b* ont envahi le cytoplasme de l'œuf et sont épars au milieu des enclaves vitellines *v*. × 1100.

Fig. 3. Portion d'une coupe d'embryon de Blatte pris dans l'oothèque. — Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. — *a* amas de Bacilles. × 160.

Fig. 4. Elle correspond à la région marquée par la lettre A dans la figure précédente. — *b Bacillus cuenoti*. × 1100.

Fig. 5. Tissu adipeux d'une Blatte adulte parasitée par un organisme à forme levure (*l*) Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine c_1, c_2, c_3 3 cellules à Bacilles. Ces microorganismes ont disparu des cellules c_1, c_3. Dans la cellule c_3, on voit deux Bacilles b_1 et b_2 en voie de division. × 1100.

Fig. 6. *Bacillus cuenoti* dans un frottis de tissu adipeux de Blatte adulte maintenue dans de bonnes conditions de vie. Chaleur. Violet de Gentiane. *b* Bacilles en voie de division. × 1500.

Fig. 7. *Bacillus cuenoti* dans un frottis de tissu adipeux de Blatte maintenue en inanition pendant 15 jours. Chaleur. Violet de Gentiane. *b* et b_1 Bacilles en voie de division. b_2 petits éléments à espace clair central. b_3 Bacilles en baguettes de tambour. × 1500.

Fig. 8. *Bacillus cuenoti*, culture en bouillon. *b* formes longues du voile qui se forme à la surface du liquide (culture de 15 heures à 30° C). b_2 forme courte du liquide sous-jacent au voile (culture de 15 heures à 30° C). b_3 Bacilles en baguettes de tambour (culture de 48 heures). × 1500.

Fig. 9. *Bacillus cuenoti* est péritriche. Coloration des cils par la méthode de BENIGNETTI et GINO (culture de 12 heures sur gélose à 30° C). × 1500.

Fig. 10. *Bacillus cuenoti* dans une vieille culture sur pomme de terre. Longs filaments (*b*) et spores (*s*). × 1500.

Planche XIII.

Fig. 11. Culture sur pomme de terre. Les spores *s* sont mises en évidence par la double coloration à la fuchsine de ZIEHL et au bleu de méthylène. × 1500.

Fig. 12. Coupe de tissu adipeux de Blatte adulte. Fixation à l'alcool au $^1/_3$. Coloration par la méthode de GRAM. c_1. c_2, c_3, c_4 quatre cellules à Bacilles. *n*, n_1, n_2 noyaux de trois de ces cellules. × 600.

Fig. 13. Coupe de tissu adipeux d'une Blatte infectée par l'organisme à forme levure (*l*) Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. *c* cellules à *Bacillus cuenoti*. Les Bacilles sont en voie de disparition. f_1 et f_2 Bacilles réunis en filaments. $\times$ 1500.

Fig. 14. Grande cellule à Bacilles provenant du tissu adipeux d'une Blatte adulte. Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. *n* noyau lobé de la cellule. $\times$ 600.

Fig. 15. Dernière phase de la division amitotique d'une grande cellule à Bacilles: Tissu adipeux de Blatte adulte. Formol picrique. Hématoxyline ferrique, éosine. n, n_1 noyau des deux futures cellules-filles dont on voit l'ébauche de la membrane de séparation *s*, le long de laquelle les Bacilles sont orientés. $\times$ 1100.

(Aus dem Zoologischen Institut zu Heidelberg.)

Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. *Sphaeromyxa labrazesi* (Laveran et Mesnil).

Von
Dr. **Olaw Schröder.**

(Hierzu Taf. XIV—XV und 3 Textfiguren.)

Inhalt.

I. Material und Methoden.

Die nachfolgenden Untersuchungen wurden an *Sphaeromyxa labrazesi* Laveran u. Mesnil angestellt, von der ich in Rovigno (Istrien) im September und Oktober 1906 ein reiches Material gesammelt hatte. Diese *Myxosporidium*-Art bewohnt die Gallenblase des Seepferdchens (*Hippocampus guttulatus* Cuvier), und scheint sehr häufig vorzukommen. Jedenfalls erwiesen sich alle von mir unter-

suchten Seepferdchen als infiziert; Laveran u. Mesnil, die im Jahre 1900 diesen Parasiten zuerst beschrieben, geben gleichfalls an, daß alle sechs Exemplare von *Hippocampus brevirostris* Cuvier, die ihnen von der zoologischen Station in Arcachon geschickt waren, ihn in der Gallenblase beherbergten.

Da mir diese Art in beliebiger Menge in Rovigno zur Verfügung stand und wegen ihrer Durchsichtigkeit und Größe zu einer genaueren Untersuchung der Kernverhältnisse sehr geeignet schien, so verzichtete ich einstweilen darauf, andere Myxosporidien zu suchen und beschränkte mich auf ihr Studium. Die Untersuchung lebender Exemplare erwies sich für die feineren Kernverhältnisse als wenig ergebnisreich, so daß ich bald darauf bedacht war, eine möglichst gute Konservierung zu finden. Zunächst versuchte ich die von Doflein (1898) empfohlenen Methoden. Um gute Präparate der Harn- oder Gallenblasen bewohnenden Myxosporidien zu erhalten, strich Doflein einen Tropfen der betreffenden Flüssigkeit mit den Myxosporidien in dünner Schicht auf dem Objektträger aus und fixierte die ganze Masse. Das dünne, dem Objektträger anhaftende Häutchen mit den Parasiten behandelte er wie einen Schnitt weiter. Diese Methode, die sicher für kleine Arten sehr geeignet ist, ergab in diesem Falle keine sehr guten Resultate. Dies lag erstens daran, daß die 1—5 mm großen Myxosporidien, die meist wie ein Ballen Papier ineinander gefaltet waren (siehe Taf. I, Fig. 2), sich nicht leicht lebend auf dem Objektträger flach ausbreiten ließen, ohne Verletzungen zu erleiden. Ferner koagulierte die Gallenflüssigkeit auch unter den Myxosporidien, sowie auf ihrer Oberfläche und beeinträchtigte dadurch die Durchsichtigkeit der später gefärbten Präparate.

Sehr guten Erfolg ergab folgende Behandlung. Die ganzen herauspräparierten Gallenblasen wurden in die Fixierungsflüssigkeiten gelegt und dann unter der Flüssigkeit angeschnitten, um ein schnelleres Eindringen der letzteren zu ermöglichen. Nach gutem Auswaschen wurden die Gallenblasen in 70proz. Alkohol überführt und darin aufbewahrt. Bei Anfertigung von Präparaten wurde dann die ganzen Gallenblasen vorsichtig aufgeschnitten und die durch den Alkohol gehärteten Tiere mit feinen Pinseln isoliert. Wieder in Wasser übertragen ließen sich die meisten Exemplare zufriedenstellend mittels feiner Pinsel ausbreiten, wobei auch die auf den Parasiten koagulierte Galle sich ablöste. Die so ausgebreiteten Myxosporidien wurden dann mit einem Spatel in die Färbungslösung und die anderen Flüssigkeiten übergeführt.

Zum Fixieren verwandte ich mit gutem Erfolg FLEMMING'sche und HERMANN'sche Lösung, besonders aber eine Mischung von gleichen Teilen konz. Sublimatlösung und absoluten Alkohol, die ich zuletzt ausschließlich benutzte. Ein Gemisch von 40 proz. Alkohol und Eisessig (100 : 5) bewährte sich nicht gut.

Znm Färben der ganzen Myxosporidien eignete sich eine schwache Lösung von DELAFIELD's Hämatoxylin oder Anwendung von Hämatoxylin-chromsaurem Kali in Rücksicht auf die Kerne am besten. Zur Schnittfärbung wurde außerdem mit gutem Erfolg Eisenhämatoxylin nach HEIDENHAIN und die MALLORY'sche Färbung mit Säurefuchsin-Phosphormolybdänsäure-Anilinblau, Orange und Oxalsäure benutzt.

II. Morphologie der Sphaeromyxa labrazesi

LAVERAN et MESNIL.

Wie oben erwähnt, wurde diese Form zuerst von LAVERAN und MESNIL im Jahre 1900 beschrieben, deren Angaben über den Sitz der Parasiten nnd sein allgemeines Anssehen ich in den meisten Punkten bestätigen kann.

Sph. labrazesi bewohnt sowohl die Gallenblase der Seepferdchen wie auch alle größeren Gallengänge. Der Umstand, daß in den letzteren nur kleinere Exemplare angetroffen werden, kann nicht als Beweis dafür aufgefaßt werden, daß die Infektion vom Darm aus durch die Gallengänge vor sich geht. Für die großen Exemplare sind die Gallengänge viel zn eng, da sie selbst in der Gallenblase nur im zusammengefalteten Zustand Platz finden. Nur die größeren Gallengänge enthielten außerdem Parasiten, die immerhin noch annähernd 1 mm Durchmesser hatten. Ich zweifle indessen nicht an der Möglichkeit einer Infektion vom Darm aus durch die Gallengänge, doch sind dafür einwandsfreie Beweise noch nicht erbracht.

Der Körper von *Sphaeromyxa labrazesi* hat die Gestalt einer flachen, annähernd kreisförmigen Scheibe, von einem Durchmesser bis zu $^1/_2$ cm. Die Dicke der Scheibe beträgt bei den größten Exemplaren nur 25—40 μ. Die Farbe der Myxosporidien ist weißlich, wodurch sich die Parasiten von der grünen Gallenflüssigkeit deutlich abheben nnd schon durch die Wand der intakten Gallenblase zu erkennen sind.

An den großen Exemplaren von 2 bis 5 mm Durchmesser, die

ich lebend beobachtete, konnte ich eine Bewegung nicht feststellen. Der Rand der Körperscheibe hat breite lappenartige Fortsätze, die durch Einbuchtungen voneinander getrennt sind, aber nicht den Eindruck von Pseudopodien machen. Dagegen fanden sich in dem von mir konservierten Material jüngere Exemplare von etwa 1 mm Durchmesser, deren Umriß ganz unregelmäßig gestaltet war. Diese letzteren mögen daher im Leben wohl eine lebhaftere Beweglichkeit zeigen als die großen Exemplare, denen jedenfalls nur eine geringe Bewegungsfähigkeit zukommt.

Betrachtet man ein lebendes oder konserviertes Exemplar bei stärkerer Vergrößerung, so erkennt man, daß der Körper deutlich in Ektoplasma und Entoplasma gesondert erscheint.

Das Ektoplasma bildet unter der ganzen Körperoberfläche eine nur 2 μ dicke Lage. Bei den lebenden Parasiten läßt es sich am Rande der Körperscheibe im optischen Durchschnitt sehr gut beobachten. Es erscheint dort als ein hyaliner Saum, der, scharf vom vakuolären Entoplasma gesondert, dasselbe nach außen begrenzt. An der Oberfläche des Ektoplasmas erkannte ich bei einigen Exemplaren einen zottenähnlichen, wenig über 1 μ hohen Besatz. Dieser war mir erst bei den letzten lebend untersuchten Exemplaren aufgefallen, so daß ich nicht mit Sicherheit sagen kann, ob er immer vorhanden ist. Dennoch glaube ich das letztere, da alle konservierten Exemplare ihn aufwiesen.

Bei gefärbten Präparaten (Taf. I, Fig. 3 *epl.*) bietet das Ektoplasma einen anderen Anblick. Es färbt sich mit Hämatoxylin stärker als das Entoplasma und zeigt dann außerdem eine feine radiäre Streifung, die an eine Alveolarschicht erinnert. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß das Ektoplasma als solche aufzufassen ist, indem es auf eine einzige Wabenschicht beschränkt ist.

Die Funktion des Ektoplasmas ist bei den großen Exemplaren hauptsächlich die einer schützenden Hülle für das gröber vakuoläre Entoplasma. Sowohl Thélohan (1895, p. 202) als Doflein (1898, p. 292) geben an, daß bei Verletzungen des Ektoplasmas die umgebende Körperflüssigkeit der Wirtstiere in das Entoplasma eindringt und dasselbe schädigt. Dieses tritt wohl bei gröberen Verletzungen ein, dagegen müssen wir annehmen, daß kleinere Risse durch das Ektoplasma wieder geschlossen werden können, da sonst der Durchbruch der Sporen durch das Ektoplasma das Myxosporid schädigen würde. Bei jüngeren Exemplaren wird außerdem das Ektoplasma bei der Pseudopodienbildung und Fortbewegung die Hauptrolle spielen. wie es bei anderen Arten oft beobachtet wurde.

Das Entoplasma ist, wie schon bemerkt, vaknolär, und verhält sich so, wie es Thélohan (1895) von *Sphaeromyxa balbianii* und Doflein (1898, p. 303) von *Sphaeromyxa incurvata* beschrieben haben. Die Vaknolen haben durch die dichte Aneinanderlagerung einen nahezu sechseckigen Querschnitt erhalten. Am Rande der Körperscheibe sind sie etwa 1 μ und nehmen nach Innen zu, bis sie eine durchschnittliche Größe von 4—8 μ erreichen. In den Knotenpunkten der Vakuolenwände liegen die einzelnen Kerne, und zu ihnen, wie zu den Pansporoblasten sind die Wände der angrenzenden Vakuolen senkrecht gerichtet, so daß eine Art Alveolarsanm gebildet wird (Fig. 3, 4 usw.). Schon Doflein (1898, p. 302) hat mit Recht darauf hingewiesen, daß dieser Bau des Entoplasmas nicht als eine Wabenstruktnr im Sinne Bütschli's aufznfassen ist, da die eigentliche, sehr feine Wabenstruktur in den Wänden der Vaknolen zu erkennen ist.

In den Vakuolenwänden sind sehr kleine, im Leben stark brechende Granula (Fig. 3 g) verteilt, die nnter dem Ektoplasma oft sehr dicht angehäuft sind. Diese Granula finden sich auch auf gefärbten Schnitten, da sie sich speziell mit Eisenhämatoxylin ziemlich intensiv färben. In Alkohol, Chloroform und Xylol lösten sie sich also nicht. Für nähere Angaben über diese Granula verweise ich auf die Untersuchungen von Thélohan nnd Doflein.

III. Die Sporenbildung.

Über die Bildung der Pansporoblasten nnd Sporen bin ich zu wesentlich anderen Resnltaten gekommen als frühere Beobachter. Im Interesse der fortlanfenden Darstellung will ich in diesem Abschnitt nur meine eigenen Ergebnisse, die ich auch an anderer Stelle (1907) bereits kurz veröffentlicht habe, schildern, und erst im nächsten Abschnitt einen Vergleich mit früheren Angaben ziehen.

Betrachtet man ein großes Exemplar von *Sphaeromyxa labrazesi* mit schwacher Vergrößerung, so erscheint das Entoplasma dicht erfüllt mit zahllosen Kernen. Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß letztere sich sowohl einzeln wie in Häufchen und in Pansporoblasten vorfinden. Die einzelnen Kerne (Fig. 3 *N* u. *n*, Fig. 4 a nnd Fig. 5 a u. b) sind von recht verschiedener Größe nnd Färbnngsintensität. Es sind nämlich zwei typisch verschiedene Kernarten im Plasma vorhanden, die kaum miteinander zu verwechseln sind.

Fig. 4a zeigt einen der kleinen, dunkel aussehenden d. h. dichteren Kerne, die stets nur von einer schmalen Plasmazone umgeben sind. Diese Kerne erreichen bis etwa 2 μ Durchmesser. Meist ist von einem feineren Bau nichts zu erkennen, da sie sehr stark gefärbt sind. In anderen Fällen haben sie ein körniges Aussehen und weisen eine kleine Vakuole auf (Fig. 4f). Sehr häufig finden sich Teilungsstadien, wie sie auf Fig. 4b, c, d und e gezeichnet sind. Die Endprodukte dieser Teilungen sind Gruppen solcher Kerne (Fig. 4f) oder ansehnliche Hanfen derselben, in welchen die Kernzahl noch beträchtlicher sein kann als auf Fig. 6 (*n*) dargestellt.

Nicht sicher zu entscheiden ist es, in welcher Weise, ob mitotisch oder amitotisch, die Kernteilung vollzogen wird. Immer wieder finden sich Bilder wie Fig. 4b—f, die darüber keinen genaueren Aufschluß geben können. Es kann sich aber um keine typische Mitose handeln, da bei der Häufigkeit der Teilungsstadien sich andere Phasen derselben finden müßten. Aber auch an eine amitotische Zweiteilung erinnern die Teilungsbilder (Fig. 4b) nicht eigentlich. Ich bin daher der Ansicht, daß es sich vielleicht nm eine zurückgebildete und abgekürzte Art von Mitose handelt und werde darin durch später zn erwähnende Umstände bestärkt. Jedenfalls steht es fest, daß eine schnelle und fortgesetzte Kernvermehrung vorliegt, die schließlich zu derartigen Kernanhäufungen führen kann, wie ich auf Fig. 6 dargestellt habe.

Anders verhalten sich die großen Kerne (Fig. 5a und b *N*). Die kleinsten derselben sind etwa 3 μ groß und nm sie herum findet sich eine schmale Plasmazone. Deutlich erkennt man eine Kernmembran, ferner ein Kerngerüst, in dessen Maschen besonders nnter der Kernmembran Chromatingrannla liegen, sowie einen nicht sehr großen Binnenkörper (b) und meist eine Vakuole (*v*). Auf Querschnitten durch ein Myxosporid (Fig. 3 *N*) sieht man, daß solche Kerne häufig dicht unter dem Ektoplasma liegen. Diese Kerne wachsen nun heran, bis sie etwa 4 μ groß sind. Zugleich rücken sie von der Oberfläche ins Innere und sammeln eine ansehnliche Menge Protoplasma nm sich, welches eine unregelmäßige Anhäufung bildet (Fig. 5b). Der Bau der Kerne hat sich nicht verändert, nur ist er noch viel dentlicher geworden.

In diesem Stadium kann auch eine Vermehrung der großen Kerne stattfinden. Sie vollzieht sich zweifellos auf mitotischem Wege. Die Chromatingranula vereinigen sich zu einem Faden, der zuerst meist dicht unter der Kernmembran liegt, und verschmelzen miteinander (Fig. 5c). Ein weiteres Teilungsbild eines solchen

Kernes zeigt Fig. 5d. Die Vermehrung ist auf diesem Stadium anscheinend eine recht geringe, da man nur äußerst selten Teilnngsstadien antrifft. Nach der Teilung trennen sich die beiden neuen Kerne jedenfalls bald, worauf anch das sie nmgebende Protoplasma in zwei Ansammlungen zerlegt wird, so daß dadurch zwei der auf Fig. 5b dargestellten Bildungen entstehen.

Die Entstehnng eines Pansporoblasten wird nun dadnrch eingeleitet, daß einer der kleinen Kerne (*n*) in die Protoplasmamasse eines großen (*N*) eindringt. Die kleineu Kerne zerstrenen sich entweder von den Kernhäufchen aus im Entoplasma, nnd treffen dort mit den großen Kernen zusammen oder die großen Kerne in ihren Plasmaansammlungen nmlagern die Kernhäufchen (Fig. 6). Ist nun ein kleiner Kern in die Plasmazone eines großen eingedrungen, so sondert sich diese Plasmazone von dem umgebenden Entoplasma nnd die angrenzenden Wände der Vakuolen des Entoplasma bilden eine kugelige Hülle (Fig. 7) nm den jungen Pansporoblasten. Häufig geschieht dies aber auch erst auf einem etwas späteren Stadium.

Eine Verschmelznng der beiden Kerne findet nicht statt, vielmehr wächst der kleinere (n) heran und wird dem Großen (N) ähnlich, ohne aber dessen Größe ganz zn erreichen. Bald darauf bereitet sich einer der Kerne, und zwar meist zuerst der größere, zur mitotischen Teilnng vor (Fig. 8—15), dem bald darauf der andere Kern in ganz gleicher Weise folgt (Fig. 16).

An dieser Stelle will ich etwas näher auf die Teilung der Kerne eingehen. Fig. 8 stellt die Aneinanderreihuug der Chromatingranula dar, welche darauf zn einem Faden (Fig. 9 u. 10) verschmelzen, der häufig unter der Oberfläche des Kernes verläuft (Fig. 10) und im optischen Durchschnitt dann peripher liegende dunkel gefärbte Kügelchen vortäuschen kann (Fig. 10). Wie die nächsten Teilungsvorgänge verlaufen, kann ich nicht mit voller Sicherheit sagen. Man findet Bilder, auf denen der Chromatinfaden kürzer und dicker erscheint (vgl. Fig. 5c) und ferner solche mit zwei Chromatinfäden (Fig. 11, 12, 13 u. 20). Ob diese beiden Fäden durch Spaltung des nrsprünglichen Fadens entstanden sind, kann ich nicht entscheiden, doch sprechen die weiteren Befunde dafür. Die nächsten Stadien, die ich aufzufinden vermochte, sind Spindelbildungen, und das Chromatin hat sich bereits an die beideu Enden der Spindeln begeben (Fig. 14 u. 21), wo es zu einer kompakten Masse zusammenzieht (Fig. 15 u. 22), sich abrundet (Fig. 16) und zu neuen Kernen auflockert (Fig. 25), wobei die Fäden der Spindel manchmal noch er-

halten sind. Was ich leider nicht beobachten konnte, ist die Bildnng einer Äqnatorialplatte. Ich bin daher noch im Zweifel, ob die auf Fig. 11, 12, 13 und 20 dargestellten beiden Schleifen als echte Chromosomen aufzufassen sind, wofür allerdings Bilder, wie die Fig. 14, 15 und 21, zu sprechen scheinen. Im Widerspruch damit steht aber das anf Fig. 5d dargestellte Stadinm, das ich als Äqnatorialplatte deute. Die Lücke, die hier in meinen Beobachtungen des Verlanfes der Kernteilung bestehen bleibt, hoffe ich durch spätere Untersuchungen noch ansfüllen zu können.

Anf eine merkwürdige Erscheinnng, die ich bisher nur kurz angedeutet habe, möchte ich hier hinweisen, nämlich daß sich die kleinen Kerne (*n*) von jetzt ab genan auf die gleiche Art, also mitotisch, teilen wie die großen. Dieser Umstand scheint mir dafür zu sprechen, daß anch die früheren auf Fig. 4 und 6 dargestellten Teilungen als im Interesse einer schnellen Vermehrung abgekürzte Mitosen aufzufassen sind.

Sind in einem Pansporoblasten vier Kerne vorhanden, so hat sich auch bereits eine feine, etwas dunkler als das Protoplasma färbbare kugelige Hülle gebildet, wie ich oben angeführt habe. In dieser nimmt das Plasma mit den Kernen nur einen verhältnismäßig geringen Raum ein, indem sie die Innenfläche einer Kngelkalotte bedecken. Je nachdem man die verhältnismäßig flache Plasmamasse von der Fläche (Fig. 17) oder im optischen Dnrchschnitt (Fig. 18 n. 19) sieht, bietet sie ein verschiedenes Aussehen dar. Znm Stndium sind nnr diejenigen Pansporoblasten geeignet, die den Inhalt von der Fläche zeigen, da sich in den anderen die Kerne gegenseitig verdecken. Ich habe daher in den folgenden Figuren nur solche dargestellt, in denen die Kerne nebeneinander zn sehen sind.

Auf den Fig. 20—29 ist die Vermehrnng der Kerne bis zu ihrer definitiven Zahl vierzehn dargestellt. Dabei fällt oft auf (Fig. 20, 21, 24), daß zn den einzelnen Kernen je eine gesonderte, vielleicht nnr etwas dichtere Plasmazone gehört. Ist die Kernzahl auf zwölf bis vierzehn gestiegen, so läßt sich mehr oder weniger dentlich eine bestimmte Anordnnng in der Lage der Kerne bemerken (Fig. 27, 29 n. 30). Acht Kerne liegen peripher im Pansporoblasten, während die übrigen eine zentrale Lage einnehmen. Selten läßt anch das Plasma eine Sondernng in eine periphere nnd eine zentrale Partie erkennen (Fig. 27 nnd 30). Auf Fig. 29 nnd 30 sieht man ferner, daß von den sechs zentralen Kernen zwei (*rk*) bedeutend kleiner sind als die übrigen vier (*ak*). Wie die kleinen Kerne (*rk*) entstehen, zeigen nns Stadien, von denen eines auf Fig. 27 dargestellt

ist. Von ursprünglich vier zentralen Kernen teilen sich zwei noch einmal, so daß sechs Kerne vorhanden sind. Während aber je eine der Teilungshälften schnell wieder zur normalen Kerngröße heranzuwachsen scheint, bleiben die anderen beiden verhältnismäßig klein. Wie ich schon hier vorausschicken will, sind jene kleinen Kerne die beiden späteren Restkerne des Pansporoblasten.

Während dieser letzten Entwicklungsvorgänge treten im Protoplasma mehrere vollkommen strukturlose dunkel gefärbte Kügelchen auf (Fig. 27, 30, 31 u. 32). Sie liegen meist an der Oberfläche und werden sehr bald aus dem Plasma in den Hohlraum des Pansporoblasten ausgestoßen, werden größer und heller und verschwinden.

Mehrere von mir beobachtete Bilder machen es sehr wahrscheinlich, daß diese Kugeln (*x*) aus den peripheren Kernen austreten, ohne daß ich für den Vorgang vorerst eine Erklärung zu geben wüßte. Die größte Anzahl, die ich in einem Pansporoblasten fand, betrug fünf. Da jedoch ihr Auftreten sich nicht zu gleicher Zeit vollzieht und einige schon fast verschwunden sind, während andere noch klein und dunkel, also eben gebildet sind, so glaube ich mit Recht annehmen zu dürfen, daß ihre Gesamtzahl, der Zahl der peripheren Kerne entsprechend, acht betragen wird.

Inzwischen beginnt das Plasma des Pansporoblasten sich in zwei Hälften, die Sporoblasten, zu teilen (Fig. 30). Von den sechs zentralen Kernen treten je zwei (*ak*) in einen Sporoblasten ein, während die beiden kleineren (*rk*) als Restkerne zwischen den beiden Sporoblasten liegen bleiben. Jeder Sporoblast erhält somit sechs Kerne. Bald darauf bemerkt man die ersten Anlagen der Polkapseln (Fig. 32 *p*), als kleine schwach färbbare Spindeln, die von einer Vakuole umschlossen sind. Sie wachsen in der Folgezeit sehr in die Länge (Fig. 33 *p*), wobei sich die Vakuole entsprechend streckt.

Die Sporoblasten sind auf diesem Entwicklungsstadium ellipsoidisch geworden. Vor allem fällt aber eine deutliche Differenzierung der Kerne auf. In jedem Sporoblasten liegen die zwei aus der zentralen Partie des Pansporoblasten übergetretenen Kerne (*ak*) in der Mitte. Es sind dies die späteren Amöboidkeimkerne. Je zwei Kerne in jedem Sporoblasten haben sich an die Polkapselanlagen gelegt, sie bilden die Polkapselkerne (*pk*). Die beiden übrigen Kerne (*schk*) liegen peripher jeder in einer deutlich abgegrenzten Plasmaschicht, die die eine Hälfte des Sporoblasten umhüllt. Es sind die Schalenkerne in den beiden Anlagen der späteren Sporenschalen.

Im Laufe der weiteren Entwicklung werden die Sporoblasten

spindelförmig (Fig. 34). Die Polkapselanlagen sind größer geworden nnd haben sich in ihren Vakuolen hakenförmig znsammengekrümmt (Fig. 34 und 42). In ihnen erscheinen tropfenartige Einschlüsse, die von Hämatoxylin nicht gefärbt werden, bei Anwendnng der Mallory-schen Methode dagegen orange werden, während sich der übrige Teil der Polkapselanlage blau färbt. Anch die Kerne haben sich inzwischen verändert. Die Schalenkerne (*schk*) werden etwas größer, länglich nnd flach; ihr Chromatin sammelt sich mehr nnd mehr unter der Kernmembran an. Die Amöboidkeimkerne erscheinen dagegen kleiner, eine Vakuole sowie ein Binnenkörper sind meist nicht mehr in ihnen zn erkennen. Die Polkapselkerne sind ebenfalls kleiner geworden; anch ihnen scheint ein Binnenkörper zn fehlen, dagegen ist die Vaknole meist noch vorhanden. Um die Polkapseln und ihre Kerne läßt sich in einigen Fällen eine dichtere mehr oder minder deutlich abgegrenzte Plasmazone feststellen (Fig. 34).

Ein etwas weiteres Entwicklnngsstadium zeigt Fig. 35. Die Schalenkerne nehmen ein hohles, aufgequollenes Anssehen an. Um die Sporoblasten, die eine mehr sporenähnliche Gestalt erhalten haben, läßt sich bereits die spätere Schale deutlicher erkennen. Sie bildet eine feine Hülle, auf welcher einzelne Granula verteilt sind. Auf Fig. 36 nähern sich die Sporoblasten, jetzt wohl richtiger Sporen genannt, schon ihrer definitiven Gestalt. Die Schalenkerne (*schk*) haben ein vakuolenartiges Aussehen angenommen nnd zeigen keinerlei Struktur mehr. Die übrigen Kerne sind etwas kleiner nnd dichter geworden. Die Länge der Sporen beträgt jetzt etwa 28—30 μ bei einer Breite von 4 μ. Die Polkapselanlagen haben sich unterdessen weiter znrückgebogen, so daß die freien Enden des Hakens sich berühren (Fig. 43). Wie indessen ihre weitere Entwicklnng verläuft, vermag ich nicht zu sagen. Reifere Sporen enthalten bereits an Stelle der hakenartigen Bildnng einen birnförmigen Körper (Fig. 36 *p*), der noch heranwächst und zur endgültigen Kapsel wird. Der Spiralfaden, dessen Aufrollung in der Kapsel auf Fig. 45 dargestellt ist, stellt eine Einstülpnng der Kapselwand dar.

Das weitere Heranreifen der Sporen bis zn ihrer endgültigen Gestalt ist mit einer Längen- und Dickenabnahme verbunden (Fig. 37). Die Schalenkerne schwinden endlich vollkommen, während die übrigen Kerne, die meist in einer Reihe angeordnet sind, kleiner und dichter werden, weshalb ihr feinerer Bau immer undentlicher wird. Die Polkapseln haben jetzt ihre definitive Gestalt erlangt und in ihnen liegt der in wenigen Windungen aufgerollte verhältnismäßig dicke Faden. Auch jetzt wird jede Polkapsel noch von der

ursprünglichen Vakuole umgeben, die aber jetzt von der Kapsel fast ganz ausgefüllt ist. Die Sporenschalen sind noch nicht vollkommen ausgebildet, worauf ihre feine Körnelung hinweist,

Fig. 38 zeigt eine weitere Entwicklungsphase. Das Plasma hat sich in der Spore, deren Schalen jetzt ihre Ausbildung vollendet haben, in drei Teile geteilt, einen zweikernigen mittleren, den Amöboidkeim und zwei endständige, die den Polkapseln angehören. Die Polkapselkerne (*pk*) haben sich noch weiter verkleinert und eine etwa kappen- oder halbmondförmige Gestalt angenommen: sie liegen jetzt in dem Winkel zwischen der Polkapselvakuole und der konkaven Sporenwand. Die beiden Kerne (*ak*) des Amöboidkeims sind kaum noch 2 μ groß. Sie rücken allmählich gegeneinander, berühren sich (Fig. 39) und verschmelzen schließlich miteinander (Fig. 40 und 41).

Alle diese Vorgänge können sich vollziehen, während die Sporen noch paarweise im Pansporoblasten liegen, in dem auch die Restkerne noch zu erkennen sind. Sehr häufig trifft man aber bereits Sporen des in Fig. 38 abgebildeten Stadiums frei in der Gallenblase, bei denen sich die Kernverschmelzung demnach erst außerhalb des Myxosporids vollzieht.

Die fertige Spore besitzt auf der Schalenoberfläche eine sehr zarte Längsstreifung. Die Größenverhältnisse sind folgende:

Sporenlänge: 22—25 μ,
Sporenbreite: 3—4 μ,
Länge der Polkapseln: 8 μ,
Breite der Polkapseln: 2—3 μ,
Länge des Polfadens: etwa 12 μ,
Durchmesser des Amöboidkeimkerns: 2 μ.

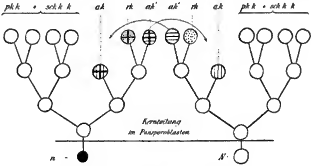
In einigen Fällen fand sich in kugeligen Hohlräumen der *Sphaeromyxa*, anscheinend also Pansporoblasten, verschiedenartige, kernhaltige Gebilde (Fig. 46), die wohl sicher als Mißbildungen aufzufassen sind. Ich begnüge mich damit, darauf hingewiesen zu haben.

IV. Bedeutung der geschilderten Kernvorgänge.

Die zuletzt geschilderte Verschmelzung der beiden Kerne des Amöboidkeims kann meiner Ansicht nach nur als Karyogamie aufgefaßt werden. Wie läßt sich diese Auffassung aber in Einklang mit der Pansporoblastenbildung bringen? Wie wir fanden,

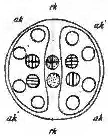
wird die Bildung des Pansporoblasten durch das Zusammentreten zweier ungleicher Kerne (*n* u. *N*) eingeleitet. Es läßt sich daher wohl nicht bezweifeln, daß einer der kopulierenden Kerne des Amöboidkeims von dem großen Kern (*N*), der andere von dem kleinen Kern (*n*) des ursprünglich zweikernigen Pansporoblasten abstammt. Daß eine Karyogamie vorliegt, dafür spricht auch die Restkernbildung, die als Reduktionsteilung je eines der beiden verschmelzenden Kerne zu deuten ist.

Zur Erläuterung dieser Kernvorgänge sollen die nebenstehenden beiden Schemata dienen. Auf ihnen ist auch die Bildung der



Textfig. 1.

Polkapsel- und Schalenkerne angedeutet. Mit Berücksichtigung der Bildung der Amöboidkeime und Restkerne und des Umstandes, daß je vier der anderen Kerne gleichwertig sein müssen, da aus ihnen gleiche Bildungen hervorgehen (vier Polkapseln und vier Schalen) läßt sich die Entstehung nur auf die dargestellte Weise erklären, wenn die Maximalzahl der Kerne vierzehn nicht überschreiten soll. Auch die Verteilung der Kerne auf die Sporoblasten ist auf dem Schema ohne weitere Erklärung ersichtlich (vgl. auch Fig. 30).



Textfig. 2.

Ich bin nicht der Ansicht, daß die Verschmelzung der Amöboidkeimkerne als Autogamie aufzufassen sei; vielmehr möchte ich dieselbe durch die Annahme erklären, daß vor Beginn der Pansporoblastenbildung eine Konjugation oder eine Verschmelzung (Plasmodienbildung) der jüngeren Myxosporidien stattfindet. Dies hat man sich so vorzustellen, daß entweder eine zeitweilige Verbindung zwischen zwei

Individuen entsteht, durch die ein Kernaustausch vermittelt wird; oder aber daß zwei oder mehrere Myxosporidien ganz miteinander verschmelzen.

Ferner kann in diesen beiden Fällen entweder schon die Differenzierung in große (*N*) und kleine (*n*) Kerne vollzogen sein, oder sie tritt erst aus bisher gleichartigen Kernen nach der Konjugation oder Verschmelzung ein. Näheren Aufschluß hierüber wird wohl nur das Studium lebender, besonders aber auch jüngerer Myxosporidien geben können. Nur auf einen Umstand möchte ich hier noch hinweisen, nämlich daß sie im Verhältnis zu den großen Kernen (*N*) schnelle Vermehrung der kleinen (*n*) es höchst wahrscheinlich macht, daß die ursprüngliche Anzahl der letzteren gering ist und dies erst durch die schnelle Teilung ausgeglichen wird. Bei ursprünglich indifferenten Kernen brauchte also nur eine geringe Anzahl sich zu kleinen Kernen (*n*) umzuwandeln, um nach kurzer Zeit den großen an Zahl gleichzukommen.

V. Vergleich mit den bisherigen Anschauungen über die Sporenbildung.

Die ersten Untersuchungen über die Sporenbildung der Myxosporidien verdanken wir Bütschli (1881), Balbiani (1884) und Thélohan (1895). Ihre Angaben wurden später von Cohn (1895) und Doflein (1898) im wesentlichen bestätigt. Die Bildung der Sporen mit zwei Polkapseln soll auf folgende Weise verlaufen: Um einzelne Kerne im Myxosporid sondert sich eine Plasmakugel ab, wodurch die Anlage des Pansporoblasten gegeben ist. Der Kern teilt sich darauf mitotisch, bis acht oder zehn Kerne vorhanden sind. Dann teilt sich das Plasma des Pansporoblasten in zwei Sporoblasten, von denen jeder drei oder vier Kerne erhält, während zwei Kerne zurückbleiben. Wenn die Sporoblasten nur drei Kerne enthalten, so teilt sich der mittlere bald, so daß schließlich immer vier Kerne vorhanden sind, zwei Amöboidkeimkerne und zwei Polkapselkerne.

Nur eine Angabe von Cohn (1895) finde ich, die hiermit nicht in Einklang steht. Er erwähnt nämlich, daß er bei *Myxidium lieberkühni* Bütschli „manchmal, wenn auch nur selten, zwölf Kerne“ im Pansporoblasten gefunden habe.

Von diesen Darstellungen weichen meine Befunde an *Sphaero-*

myxa labrazesi in mehreren Punkten ab, die ich hier kurz zusammenstellen will:

1. Treten immer zwei Kerne zur Bildung eines Pansporoblasten zusammen;
2. Die größte Anzahl der Kerne im Pansporoblasten beträgt vierzehn;
3. jeder Sporoblast erhält davon sechs Kerne; zwei bleiben als Restkerne zurück;
4. es sind im Sporoblasten von Anfang an zwei Amöboidkeimkerne vorhanden. Eine spätere Zweiteilung eines solchen Kernes tritt daher nicht ein, sondern eine Verschmelzung der zwei ursprünglich vorhandenen Kerne.

Auf welche Weise lassen sich nun die Gegensätze meiner Befunde mit früheren erklären? Wäre es nicht möglich, daß die verschiedenen Arten von Myxosporidien in der Sporoblastenbildung differieren? Ich halte dies wenigstens für die Hauptzüge der Entwicklung für ausgeschlossen, besonders da bei allen Arten die Endprodukte derselben, die Sporen, sich in der Kernzahl des Sporenkeims gleichen und nur in unwichtigen morphologischen Eigenschaften voneinander abweichen.

Die erste Bildungsphase des Pansporoblasten soll, wie von allen Autoren angegeben wird, dadurch entstehen, daß sich um einen Kern eine kugelige Plasmamasse bildet. Derartige Bilder habe auch ich bei *Myxidium lieberkühni* beobachtet, ich halte sie jedoch für gleichbedeutend mit dem auf Taf. XIV Fig. 5b dargestellten Stadium von *Sphaeromyxa labrazesi.* Daß bei letzteren die Plasmamasse nicht kugelig ist, läßt sich vielleicht auf den grobvakuolären Bau des Körperplasmas zurückführen, während bei Arten mit gleichmäßig feinwabigem Plasma die gleichen Stadien wahrscheinlich kugelig sein werden. Alle späteren Kerne im Pansporoblasten wurden dann als Teilungsprodukte dieses ersten Kernes angesehen.

Auch in der Gesamtzahl der Kerne des Pansporoblasten glaube ich nicht, daß bei den Sporen mit zwei Polkapseln ein Unterschied vorhanden sein kann, diejenigen mit vier werden dagegen statt vierzehn achtzehn Kerne im Pansporoblasten aufweisen und in jedem Sporoblasten acht, wobei zwei Restkerne zurückbleiben. Denn es ist höchst unwahrscheinlich, daß wenn bei *Sphaeromyxa* die Sporenschalen durch Vermittlung und Auflösung von Schalenkernen entstehen, dies bei den anderen Myxosporidien nicht der Fall sein sollte, umsomehr, als bei den verwandten Actinomyxidien die dreiklappige

Sporenschale in ganz analoger Weise aus drei Kernen gebildet wird, wie Caullery und Mesnil (1905) bewiesen haben.

Wenn ferner die Zweizahl der Amöboidkeimkerne durch die spätere Karyogamie ihre Erklärung fand, so liegt es wohl nahe, für die anderen Myxosporidien gleiche Vorgänge anzunehmen. Wenn es zuerst unglaubhaft erscheint, daß zwei differente Kerne zur Bildung des Pansporoblasten zusammentreten und erst zwei ihrer durch Teilung entstandenen Nachkommen verschmelzen, so kann ich auch hier auf einen ähnlichen Befund von Caullery und Mesnil (1905) bei *Sphaeractinomyxon* hinweisen, wo zwei in einer gemeinsamen Hülle liegende Kerne sich auf sechzehn vermehren und davon wahrscheinlich je zwei verschmelzen. Wie weit allerdings die Sphaeractinomyxidien entwicklungsgeschichtlich mit den Myxosporidien zu vergleichen sind, ist zurzeit noch ungewiß. Andererseits bestehen Angaben von Thélohan (1895) und Doflein (1898), welche, wenn sie nicht auf Irrtum beruhen, es vollkommen ausschließen, daß sich im Amöboidkeim eine Karyogamie vollzieht. Ich will hier nur eine Stelle der Arbeit Doflein's (1898, p. 309) anführen. Er sagt: „Die äußerlich vollendete Spore kann außer den zwei Kernen, welche die Polkapseln erzeugt haben, ein oder zwei Kerne im Sporenplasma enthalten. Ich kann jedoch die Beobachtung Thélohan's bestätigen daß, wenn zunächst nur ein Kern vorhanden ist, dieser sich teilt (ich habe oft in Sporen Mitosen gefunden), so daß der reife Amöboidkeim immer zweikernig ist.“ Wenn ich trotz dieser bestimmten Angabe Doflein's glaube, daß ein Beobachtungsfehler vorliegt, so geschieht das nach Durchsicht von vielen Hunderten von Sporen. Bei allen unreifen, auf den in Figur 33—36 dargestellten Stadien befindlichen Sporen waren stets sechs Kerne vorhanden, alle Sporen vom Stadium Fig. 37 hatten deutlich vier getrennte Kerne und von den Sporen mit fertig ausgebildeten Schalen war die Hälfte noch zweikernig, viele davon mit zusammenliegenden Kernen, einige im Verlauf der Verschmelzung und etwa ein Drittel einkernig. Durch die Einkernigkeit der vollkommen reifen Sporen läßt sich auch erklären, daß die jüngsten Myxosporidienstadien, die Doflein auffand, einkernig waren. Doflein selbst meint (p. 315), dies sei nur durch die Annahme einer vorhergegangenen Befruchtung in einfacher Weise zu erklären, indem er annimmt, daß je zwei im Darm aus den Sporen ausgeschlüpfte zweikernige Amöboidkeime konjugieren, je einen Kern austauschen, der mit dem in jedem Individuum zurückgebliebenen Kern verschmilzt. Eine derartige Deutung will mir aber, abgesehen von meinen Befunden, schon deshalb nicht wahrscheinlich erscheinen,

weil sie nur unter der Voraussetzung möglich sein könnte, daß der Fisch, in dessen Darm die Sporenkeime auskriechen, zu gleicher Zeit Sporen verschiedener Myxosporidienexemplare gefressen haben müßte, denn eine Konjugation unter Sporenkeimen des gleichen Exemplares ist nicht wohl annehmbar. Diese Voraussetzung kann wohl ausnahmsweise einmal eintreffen, aber doch durchaus nicht häufig, was aber zur Erhaltung der Myxosporidienart notwendig wäre.

Wenn ich nach meinen Befunden annehme, daß bei allen Myxosporidien im Sporenkeim eine Karyogamie eintritt, so mag doch der Zeitpnnkt derselben verschieden sein. Bei den frei in Körperhöhlen der Wirtstiere lebenden Arten, deren Sporen bald nach ihrer Ausbildung ausgestoßen werden, tritt wie bei *Sphaeromyxa labrazesi*, wahrscheinlich die Karyogamie auch sehr bald in den ausgebildeten Sporen ein. Anders mögen sich indessen die Arten verhalten, die in Cysten vereint im Gewebe der Wirtstiere eingeschlossen sind, nnd erst nach Absterben der letzteren frei werden. Hier bleiben die Sporenkeime vielleicht längere Zeit noch zweikernig und die Karyogamie tritt erst nach dem Tode der Wirtstiere ein, wenn deren Gewebe nicht mehr frisch sind. Diese Vermutung hege ich deswegen, weil man fast immer in Cysten aus frisch konservierten Fischen, die nur ausgebildete Sporen enthalten, zweikernige Amöboidkeime antrifft. Dagegen fanden Schuberg und ich (1905) in mehreren mit einer *Myxobolus*- und einer *Henneguya*-Art stark infizierten Bachforellen, die längere Zeit nach ihrem Absterben konserviert worden waren, in sämtlichen zahlreichen Sporen nur einen Amöboidkeimkern. Dieser Befund, der damals von uns als ein eigentümlicher Zufall angesehen wurde, ist vielleicht geeignet, meine Hypothese zu stützen. Außerdem erklärt sich vielleicht der oft vergeblich gemachte Versuch einer künstlichen Infektion durch Verfüttern von Sporen dadurch, daß die von eben getöteten Fischen stammenden Sporen noch nicht ganz reif, also noch zweikernig waren, und zur Neuinfektion noch nicht geeignet waren.

VI. Vermutlicher Entwicklungskreis von Sphaeromyxa labrazesi.

Leider sind unsere Kentnisse jüngerer Myxosporidienstadien noch sehr gering und die Angaben darüber teilweise widersprechend. Dennoch läßt sich nach den Angaben von Thélohan (1895), Cohn

(1895) und Doflein (1898) im Zusammenhang mit meinen Befunden, der Entwicklungskreis der frei in Körperhöhlen lebenden Arten, wie z. B. *Myxidium* und *Sphaeromyxa* jedenfalls in seinen Grundzügen darstellen.

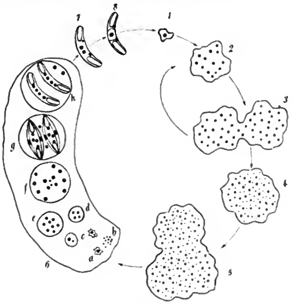
Ein Zwischenwirt ist bei diesen Formen wohl sicher auszuschließen. Die reife Spore mit einkernigem Amöboidkeim kommt direkt in den definitiven Wirt, indem sie von ihm mit der Nahrung aufgenommen wird. Hierbei werden die Spiralfäden der Polkapseln vielleicht eine Rolle spielen. Entweder sie schnellen (wie u. a. Thélohan und Doflein annehmen) erst in den Verdauungssäften des Wirtstieres aus und dienen zur Festheftung der Sporen am Darmepithel oder sie sind schon vorher im Wasser ausgeschnellt und erhöhen die Schwebfähigkeit der Sporen. Auch zur Festheftung an Fremdkörpern, die von den Wirtstieren gefressen werden, mögen sie dienen und nachher im Darm die gleiche Funktion ausüben. Immerhin sind die Angaben von lebenden Sporen, deren Spiralfäden im Wasser ausgeschnellt sind, spärlich (vgl. auch Schröder 1906).

Im Darm der Wirtstiere schlüpft der junge einkernige Sporenkeim aus. Der Weg, auf dem er zu seinem endgültigen Sitz im Wirte gelangt, ist noch ungewiß. Es ist jedoch von Hofer (1896), Doflein (1898) und kürzlich von Joseph (1906) ein intracelluläres Eindringen der Jugendstadien für einige Arten bewiesen, so daß es mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit auch für die anderen gilt, eine Ansicht, die bereits Doflein (1899) vertreten hat. Bei vielen Arten werden die jungen Myxosporidien ferner die Blutbahnen zur Wanderung im Wirtskörper benutzen, doch ist für verschiedene Myxosporidien auch ein anderer Weg nicht auszuschließen. So könnten z. B. die Bewohner der Harn- und Gallenblasen, wie Lühe (1900) anführt, vom Darm direkt in diese Organe gelangen. Bei einer von Schuberg (1905) und mir beschriebenen *Myxobolus*-Art erscheint es nicht ausgeschlossen, daß sie innerhalb der Nervenfasern sich im Wirte verbreitet hat.

Um die oft so starke Infektion der Wirtstiere zu erklären, müssen wir für viele Arten eine multiplikative Fortflanzung annehmen. Im Jahre 1895 hat Cohn von *Myxidium lieberkühni* eine Vermehrung durch Knospung beschrieben und 1898 beobachtete Doflein bei *Chloromyxum leydigi* eine Vermehrung durch Zweiteilung. Nach Laveran u. Mesnil (1902) soll auch bei *Myxidium lieberkühni* nur eine Zweiteilung vorkommen.

Die von mir oben geschilderten geschlechtlichen Vorgänge im Verlaufe der Sporenbildung lassen sich durch eine Konjugation

zweier Exemplare oder Verschmelzung zweier oder mehrerer Exemplare vor Beginn der Sporenbildung erklären. In beiden Fällen kann die Differenzierung in die beiden Kernarten (*N* u. *n*) entweder schon vollzogen sein oder aber dieselbe würde erst später erfolgen. Bei der Konjugation würden z. B. zwischen den beiden Individuen indifferente Kerne ausgetauscht, die sich im anderen Organismus zu den kleinen Kernen differenzierten, oder aber von den bereits differenzierten Kernarten würde nur die eine ausgetauscht. Das gleiche gilt bei der Verschmelzung zweier oder mehrerer Exemplare, wobei entweder noch indifferente Kerne oder schon beide Kernarten vorhanden sind. Eines steht jedenfalls fest, daß nämlich die Anzahl der kleinen Kerne (*n*) ursprünglich geringer sein muß als die der großen (*N*), und nur durch die schnellere Vermehrung ihr gleich wird. Im Falle einer Konjugation würde ein Austausch einer geringen Anzahl von kleinen Kernen, oder Kernen, die sich im anderen Organismus zu solchen entwickeln, genügen, um bald durch die schnelle Vermehrung eine große Zahl entstehen zu lassen.



Textfig. 3.

Mit Rücksicht auf die eben besprochenen Beobachtungen an anderen Arten läßt sich der Entwicklungskreis von *Sphaeromyxa*

labrazesi ohne Rücksicht auf den Weg, den der Parasit bis zur Gallenblase einschlägt, folgendermaßen darstellen (siehe nebenstehendes Schema): Aus der gefressenen, einkernigen Spore schlüpft im Darm des Seepferdchens der Sporenkeim (1) aus, wächst heran, indem sich zugleich seine Kernzahl vermehrt (2). Darauf erfolgt entweder eine Zweiteilung (3) oder eine Knospenbildung. Im weiteren Verlauf konjugieren zwei Exemplare, oder zwei oder mehrere verschmelzen (5), und vorher oder nachher entsteht die Kerndifferenzierung. Durch Zusammentreten eines großen (6a) und eines kleinen Kernes (6b) entsteht der Pansporoblast (6c), dessen Kerne sich bis auf vierzehn vermehren (6d—6k). Diese verteilen sich mit Ausnahme der beiden Restkerne auf die Sporoblasten, von denen jeder zwei Amöboidkeimkerne, zwei Schalenkerne und zwei Polkapselkerne erhält. Nach Ausbildung der Sporenschalen (7) verschmelzen die Amöboidkeimkerne, indem die reife Spore (8) entweder schon vorher oder jetzt ausgestoßen wird. Hiermit ist der Entwicklungskreis geschlossen.

Zusatz während der Korrektur.

Kurz nach Abschluß meiner Arbeit machte mich Herr Dr. Fr. Doflein darauf aufmerksam, daß das Vorhandensein von Schalenkernen im vergangenen Jahre von Léger und Hesse in zwei Mitteilungen festgestellt worden sei. (Léger, L.: Sur une nouvelle maladie Myxosporidienne de la truite indigène. C. R. Acad. Sc. Paris 1906 T. 142 p. 655—656, und Léger et Hesse: Sur la structure de la paroi sporale des Myxosporidies. C. R. Acad. Sc. Paris 1906 T. 142 p. 720—722.) Mir waren diese beiden Mitteilungen nur dem Titel nach bekannt, da ich mich bisher vergeblich bemüht hatte, dieselben zu erhalten. Erst durch die Freundlichkeit des Herrn Dr. Doflein, der mir die letzte der beiden Mitteilungen zur Ansicht sandte, lernte ich die Resultate von Légea und Hesse kennen.

Nachdem Léger zuerst bei *Chloromyxum truttae* erkannt hatte, daß bei der Bildung der Sporenschalen je eine kernhaltige Plasmapartie beteiligt sei, untersuchten Léger und Hesse mehrere andere den Gattungen *Myxidium myxobolus* und *Henneguya* angehörende Myxosporidienarten und konnten für alle das gleiche Verhalten feststellen. An dieser Stelle möchte ich auch darauf hinweisen, daß die von mir (1906 S. 192) bei Sporen von *Henneguya acerinae* an der Basis der Schwanzanhänge beschriebenen und abgebildeten Bläschen, deren Natur ich damals nicht erkannte, als Schalenkerne

zu deuten sind, wie die Beschreibung und Abbildung von Léger und Hesse, sowie eine erneute Durchsicht der Präparate ergeben haben.

Auf zwei weitere, im vorigen Jahre erschienene kurze Mitteilungen von M. L. Mercier, die mir noch nicht bekannt waren, wurde ich durch Herrn Dr. M. Hartmann hingewiesen. In der ersten (Phénomène de sexualité chez *Myxobolus pfeifferi.* Compt. rend. Soc. de Biol. 1906 t. 60 p. 427—428) beschreibt Mercier das auch von mir beobachtete Zusammentreten zweier ungleicher Kerne zu einem Pansporoblasten. Er schreibt: „Dans la zone moyenne de l'endoplasme, on trouve de nombreux éléments constitués par une aire cytoplasmique individualisée autour d'un noyau. Frequemment, ces éléments cellulaires sont disposés par couples; dans un tel couple, les deux éléments ne sont pas semblables. Il existe une différence sensible dans la taille des conjoints et les noyaux, à gros nucléole central, sont inégaux. Mais ces noyaux ne se fusionnent pas; le gros nucleole central se fragmente, les grains de chromatine résultant de cette fragmentation se portent vers la périphérie et bientôt deviennent épars dans le cytoplasme. C'est aux dépens de ces granules chromatiques que j'ai vu se constituer les noyaux qni deviendront les noyaux des sporoblastes."

Während meine Resultate in betreff der ersten Bildnng des Pansporoblasten mit den Ergebnissen von Mercier ziemlich übereinzustimmen scheinen, weichen sie dagegen in Hinsicht auf die Kernvermehrung im Pansporoblasten erheblich ab, wie aus meiner Abhandlung genügend ersichtlich, so daß ich an dieser Stelle nicht noch einmal darauf einzngehen brauche.

In einer zweiten knrzen Mitteilung (Contribution à l'étude du développement des spores chez *Myxobolus pfeifferi.* Compt. rend. Soc. de Biol. 1906 t. 60 p. 763—764) schildert Mercier die auch von Hesse und Léger (1906) erkannte Art der Schalenbildung, die durch meine zusammenhängenden Beobachtnngen der Pansporoblasten- und Sporenbildung bestätigt werden. Dagegen decken sich Mercier's Angaben über die Zahl der im Pansporoblasten enthaltenen Kerne, die nur zehn betragen soll, nicht mit meinen Befunden.

Heidelberg, Mai 1907.

Literaturverzeichnis.

1884 Balbiani, E. G.: Leçons sur les Sporozoaires. Paris.
1881 Bütschli, O.: Beiträge zur Kenntnis der Fischsporospermien. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. Vol. 35.
1905 Caullery et Mesnil: Recherches sur les Actinomyxidies 1. Sphaeractinomyxon stolci Caullery et Mesnil. in: Arch. f. Protistenk. Vol. 6.
1895 Cohn, L.: Über die Myxosporidien von Esox lucius und Perca fluviatilis. in: Zool. Jahrb. Anat. Vol. 9.
1898 Doflein, Fr.: Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. III. Über Myxosporidien. in: Zool. Jahrb. Anat. V. 11.
1899 —: Fortschritte auf dem Gebiete der Myxosporidienkunde. Zool. Centralbl. Jahrg. 6.
1896 Hofer, Br.: Die sogenannte Pockenkrankheit der Karpfen. in: Allgemeine Fischereizeitung.
1896 —: Die Infektion der Fische mit Myxosporidien. in: Allgem. Fischereizeitung.
1907 Joseph, H.: Chloromyxum protei n. sp., ein in der Niere des Grottenolmes parasitierendes Myxosporidium. in: Arch. f. Protistenk. Vol. 8.
1900 Laveran et Mesnil: Sur une Myxosporidie des voies biliaires de l'Hippocampe. in: Compt. Rend. Soc. Biol. V. 52.
1902 —: Sur la multiplication endogène des Myxosporidies.
1900 Lühe, M.: Ergebnisse der neueren Sporozoenforschung. Jena.
1906 Schröder, O.: Eine neue Myxosporidienart aus den Kiemen von Acerina cernua (Henneguya acerinae n. sp.). in: Arch. f. Protistenk. Vol. 7.
1907 —: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Myxosporidien. in: Verhandl. des Nat. med. Vereins zu Heidelberg N. F. Vol. 8.
1905 Schuberg, A. u. O. Schröder: Myxosporidien aus dem Nervensystem und der Haut der Bachforelle (Myxobolus neurobius n. sp. und Henneguya nüsslini n. sp). in: Arch. f. Protistenk. Vol. 6.
1895 Thélohan: Recherches sur les Myxosporidies. in: Bull. Sc. France Belgique Vol. 26.

Tafelerklärung.

Abgesehen von Fig. 1 und 2, die im Verhältnis von 15 : 1 resp. 40 : 1 gezeichnet sind, sind alle Figuren in 1500facher Vergrößerung, teilweise mit Benützung des Zeichenapparates dargestellt.

Figurenbezeichnung.

ak = Amöboidkeimkern.
b = Binnenkörper.
bg = Bindegewebe.
eg = Epithel der Gallenblase.
epl = Ektoplasma des Myxosporids.
g = Granula.
jpsp = Junger Pansporoblast.
m = Myxosporidien.
N = Große Kerne im Myxosporid.

n = Kleine Kerne im Myxosporid.
p = Polkapsel.
pk = Polkapselkern.
psp = Pansporoblast.
rk = Restkern.
schk = Schalenkern.
v = Vaknole in den Kernen.
x = Kugeln im Pansporoblasten.

Tafel XIV.

Fig. 1. Gesamtbild eines Myxosporids.

Fig. 2. Schnitt durch eine infizierte Gallenblase.

Fig. 3. Teil eines Querschnittes durch ein Myxosporid.

Fig. 4 a—f. Kleine Kerne und Teilungsbilder derselben.

Fig. 5 a—d. Große Kerne und Teilungsbilder derselben.

Fig. 6. Ein Haufen kleiner Kerne (*n*), um ihn herum junge Pansporoblasten (*jpsp*); am oberen Rand große Kerne (*N*).

Fig. 7. Junger zweikerniger Pansporoblast.

Fig. 8—15. Desgl. ein Kern in Mitose.

Fig. 16. Dreikerniger Pansporoplast, ein Kern in Mitose.

Fig. 17. Vierkerniger Pansporoblast von der Fläche gesehen.

Fig. 18—19. Desgl. von der Kante gesehen.

Fig. 20. Desgl. ein Kern in Mitose.

Fig. 21. Fünfkerniger Pansporoblast, ein Kern in Mitose.

Tafel XV.

Fig. 22. Fünfkerniger Pansporoblast mit zwei Mitosen.

Fig. 23. Fünfkerniger Pansporoblast.

Fig. 24. Sechskerniger Pansporoblast.

Fig. 25. Siebenkerniger Pansporoblast mit Kernspindel.

Fig. 26. Zehnkerniger Pansporoblast.

Fig. 27. Dreizehnkerniger Pansporoblast, acht Kerne liegen peripher, fünf in einer zentralen Plasmapartie, davon ist einer in Mitose, die zur Bildung des noch fehlenden einen Restkernes führt, während der zweite Restkern (*rk*) schon vorhanden ist. Außerdem finden sich außerhalb des Plasma drei dunkle Kugeln *x*.

Fig. 28. Vierzehnkerniger Pansporoblast, in der zentralen Partie die beiden kleineren Restkerne (*rk*).

Fig. 29. Desgl.

Fig. 30. Trennung des Pansporoblasten in die beiden Sporoblasten. Von den sechs mittleren Kernen treten je zwei in einen Sporoblasten, während die beiden Restkerne zwischen den letzteren liegen bleiben. Vier Kugeln (*x*) außerhalb der Sporoblasten.

Fig. 31. Die Trennung der Sporoblasten vollzogen. Die beiden Restkerne liegen ausnahmsweise getrennt. Vier Kugeln (*x*) vorhanden.

Fig. 32. Desgl. Die vier Polkapselanlagen (*p*) haben sich gebildet.

Fig. 33. Die Sporoblasten haben ellipsoide Gestalt angenommen. Ihre sechs Kerne haben eine bestimmte Lage angenommen und sind jetzt als zwei Amöboidkeimkerne (*ak*), zwei Polkerne (*pk*) und zwei Schalenkerne (*schk*) zu unterscheiden. Die Polkapseln haben langgestreckte spindelförmige Gestalt angenommen.

Fig. 34. Gestalt der Sporoblasten spindelförmig, Kerne wie auf Fig. 33. Polkapselanlagen bakenförmig gekrümmt.

Fig. 35. Sporoblasten zeigen bereits die Krümmung der fertigen Sporen. Schalenkerne vergrößert, die Anlage Sporenschalen dentlicher.

Fig. 36. Sporoblasten baben bereits Sporengestalt angenommen. Schalenkerne aufgequollen, die übrigen Kerne sind kleiner geworden.

Fig. 37. Junge Spore. Die Schalenkerne haben sich aufgelöst. Die anderen Kerne erscbeinen kompakter nnd liegen in einer Reihe. Polkapseln bereits in ibrer definitiven Gestalt.

Fig. 38. Reifere Spore. Die Polkapselkerne sind in den Winkel zwischen der konkaven Sporenwand und die Polkapseln gerückt. Der Amöboidkeim hat sich abgesondert.

Fig. 39. Desgl. Die Amöboidkeimkerne in Verschmelznng.

Fig. 40. Desgl.

Fig. 41. Reife Spore nach vollzogener Karyogamie.

Fig. 42. Sporoblasten mit hakenförmig gekrümmten Polkapselanlagen. Kerne nnd Plasma nicht eingezeichnet.

Fig. 43. Polkapselbildnngsstadinm.

Fig. 44. Spore mit ausgeschnellten Polkapselfäden.

Fig. 45. Polkapsel mit anfgerolltem Faden stark vergrößert.

Fig. 46. Mißbildungen in einem Pansporoblasten.

(Aus dem Zoologischen Institut Heidelberg.)

Über *Orcheobius herpobdellae* Schuberg et Kunze, ein Coccidium aus *Herpobdella atomaria* Car. (*Nephelis vulgaris* Moq.-Tand.)

Von

Wilhelm Kunze.

(Hierzu Tafel XVI—XVIII und 14 Textfiguren.)

Bereits im Hochsommer des Jahres 1899 fiel Herrn Professor Schuberg gelegentlich einer Exkursion auf, daß bei einem großen Teil der *Herpobdella atomoria (Nephelis vulgaris)*, welche in den Altwässern des Neckar beim Kümmelbacher Hof, einige km oberhalb Heidelberg, gefunden wurden, die Ventralseite der hinteren Hälfte eigentümlich milchig weiß gefärbt war. Die Untersuchung ergab, daß die Hoden mit einem bisher unbekannten Sporozoon infiziert waren. Herr Professor Schuberg untersuchte den interessanten Organismus und seinen Entwicklungscyclus damals nur teilweise; vor einiger Zeit überließ er mir in freundlicher Weise die Bearbeitung des neuen Parasiten, die ich unter seiner beständigen Leitung im zoologischen Institut der Universität Heidelberg ausführte. Sowohl hierfür als auch für seine freundliche und wertvolle Unterstützung bei meinen Untersuchungen ihm meinen aufrichtigsten Dank zu sagen, ist mir eine angenehme Pflicht. Ebenso danke ich Herrn Geheimrat Bütschli für die wertvollen Ratschläge, die er mir erteilte. Äußere Umstände hinderten mich, die Untersuchungen über die Befruchtung ganz zu Ende zu führen. Herr Professor Schuberg hatte die Freundlichkeit

die Untersuchungen zum Abschluß zu bringen, und es sei hier auf die in den Verhandl. d. Deutsch. Zool. Gesellschaft erschienene vorläufige Mitteilung (SCHUBERG u. KUNZE 1906) verwiesen. Mit seiner freundlichen Erlaubnis, für die ich Herrn Professor SCHUBERG ebenfalls meinen aufrichtigen Dank sage, wurden einige von ihm gezeichnete Figuren in der vorliegenden Arbeit reproduziert.

Schon von Anfang an hatte sich gezeigt, daß das neue Sporozoon ein Coccidium ist, das in seiner Sporenbildung fast völlig mit der Gattung *Klossia* übereinstimmt. Während jedoch bei *Klossia* sowohl die Makrogameten als auch die Mikrogametocyten die Form eines Rotationsellipsoids haben, wie sie bei allen Coccidien mit Ausnahme von *Angeiocystis audouiniae* (BRASIL 1904 B) verbreitet ist, besitzen bei dem Hodenparasiten der *Herpobdella* die reifen Makrogameten und Mikrogametocyten eine langgestreckte wurmförmige Gestalt, welche jener einer *Monocystis* nicht unähnlich ist, unterscheiden sich jedoch von ihr durch völlige Unbeweglichkeit. Darum erschien es angebracht, für den neuen Organismus eine neue Gattung zu bilden; nach seinem Wirt und dem Organ, in dem er lebt, erhielt er den Namen *Orcheobius herpobdellae* SCHUBERG u. KUNZE (vgl. die vorläufige Mitteilung SCHUBERG und KUNZE 1906).

Es ist dies das erste Coccidium, das aus einem Hirudineen bekannt wird. Von anderen Sporozoen wurden bisher, außer einer sehr wenig bekannten Form von durchaus zweifelhafter Stellung, nur Gregarinen und ein Hämosporidium aus Hirudineen angeführt. BOLSIUS (1895 und 96) und CASTLE (1900) fanden im Darm von Glossosiphonien Gregarinen, wahrscheinlich einer Art angehörend, welche in den letzten Jahren auch von Herrn Professor SCHUBERG gemeinsam mit den Herren LÖSER und DUKE mehrfach in Heidelberg beobachtet wurde. — KOWALEWSKY (1899 A und B) und CASTLE (1900) berichten von encystierten Sporozoen, welche in der Muskulatur von Glossosiphonien vorkommen, ohne jedoch irgend welche näheren Angaben über dieselben zu machen; KOWALEWSKY (1899 A) bezeichnet sie als Myxosporidien, CASTLE dagegen erwähnt die Möglichkeit, daß diese Sporozoencysten — vielleicht sind es andere als die von KOWALEWSKY beobachteten — zu dem Entwicklungskreis der Gregarine gehören könnten. — Endlich stellte SIEGEL (1903) fest, daß das Hämosporidium *Haemogregarina stepanovi*, das schon seit längerer Zeit aus der Schildkröte *Emys lutaria* bekannt war, seine geschlechtliche Fortpflanzung in dem Rüsselegel *Placobdella catenigera* durchmacht, welcher die Parasiten mit dem Blute der Schildkröten aufsaugt und die Neuinfektion anderer Schildkröten vermittelt.

Untersuchungsmethoden.

Zur Untersuchnng der ans dem Wirtstiere isolierten Parasiten werden die Herpobdellen lebend, mit der Dorsalseite nach unten, in einem Präparierschälchen festgesteckt nnd mit physiologischer Kochsalzlösung übergossen. Dann werden in der ventralen Seite der hinteren Körperregion, etwas seitlich von der Medianlinie, mit dem Skalpell einige Schnitte gemacht, durch die der Hoden angeschnitten wird, ohne daß man jedoch den Darm verletzt. Der Hodeninhalt, der ans den Wunden heransqnillt, wird mit einer Pipette auf einen Objektträger gebracht und dort lebend in physiologischer Kochsalzlösung untersucht. Auch Eiweißlösung erwies sich hierzn geeignet. In beiden Flüssigkeiten hielten sich die Sporozoen einige Stnnden lang lebend.

Von größter Wichtigkeit war das Studium einer möglichst großen Zahl von gefärbten Totalpräparaten nnd Schnitten. Man erhält recht gute Präparate, wenn man den mit Kochsalzlösung vermischten Hodeninhalt unter dem Deckglas mit einer Mischung von einem Volnmteil Eisessig nnd vier Volnmteilen absolntem Alkohol fixiert, mit Wasser auswäscht nnd dann mit verdünntem angesänertem Delafield'schem Hämatoxylin färbt. Wird die Färbung nicht von vornherein genügend different, so läßt man noch angesäuerten Alkohol und daranf, nm die sanre Reaktion wieder auszngleichen, ammoniakalischen Alkohol einwirken.

Dann werden die Präparate in Kanadabalsam übergeführt.

Als vollwertiger Ersatz für Totalpräparate können anch dicke Schnitte durch eine infizierte *Herpobdella* dienen, welche für das Studinm der Schizogonie 15 μ, für das Studium der Sporogonie mindestens 30 μ dick sein müssen.

Sowohl zu diesen dicken Schnitten als auch zn dünneren wurden fast ausschließlich Herpobdellen verarbeitet, welche mit Alkohol-Eisessig (s. oben) konserviert waren; ich erhielt dabei ausgezeichnete Resultate. Sowohl die Sporozoen als anch die Gewebe des Wirtstiers waren vorzüglich erhalten.

Sehr gute Kernfärbungen ergab, als Stückfärbnng angewandt, Boraxkarmin, mit angesäuertem Alkohol differenziert. Die so vorgefärbten Schnitte wurden in verschiedener Weise nachgefärbt: mit Blen de Lyon (0,5 Proz. in 70 proz. Alkohol), mit Bleu de Lyon nnd Bismarckbraun (letzteres 0,5 Proz. in Wasser), mit Blochmann'scher Lösnng (0,01 Proz. Triphenylrosanilintrisulfosanres Natron in konzentrierter wässeriger Pikrinsänrelösung) oder schließlich mit einer

Mischung von 100 Teilen einprozentiger wässeriger Nigrosinlösung und 9 Teilen konzentrierter wässeriger Pikrinsäurelösung. Obwohl alle genannten Nachfärbungen gute Resultate ergaben, wurden dicke Schnitte (30 μ) mitunter gar nicht nachgefärbt.

Für dünnere Schnitte eignet sich auch recht gut die von SCHUBERG (1903) angegebene Kombination von Boraxkarmin mit der R. HEIDENHAIN'schen Hämatoxylinmethode (Stückfärbung: Boraxkarmin 12—24 Stunden, angesäuerter Alkohol 12—24 Stunden, 0,25 Proz. Hämatoxylin in 2 proz. Alkohol 24 Stunden, 0,25 Proz. Kaliummonochromat in Wasser 12—24 Stunden). Hierdurch wurde eine brauchbare Kern- und Plasmafärbung erzielt.

Als Kernfarbstoff für Färbung der Schnitte auf dem Objektträger wurde stark verdünntes Hämatoxylin bevorzugt. (3—5 Tropfen auf 30 ccm Wasser mit einer ganz kleinen Spur Essigsäure). Man erhält dann bei mehrstündiger Färbung ohne nachträgliche Differenzierung klare Kernbilder. (Vgl. SCHAUDINN 1900). Zur Nachfärbung benutzte ich Eosin; häufig jedoch wandte ich gar keine Nachfärbung an.

Von Anilinfarbstoffen wurden gelegentlich zur Kernfärbung benutzt: Safranin, Thionin, Dahlia nach SCHUBERG (1903) (0,3—1 Proz. in 15—20 proz. wässeriger Essigsäure) und polychromes Methylenblau. Letztere drei wurden in der von SCHUBERG (1903) angegebenen Weise fixiert, indem die Präparate 2 Minuten lang mit einer 10 proz. wässerigen Tanninlösung und nach kurzem Abspülen in Wasser 3 Minuten lang mit einer 3 proz. Lösung von Brechweinstein in Wasser behandelt wurden. Alle vier Farbstoffe gaben recht klare Kernbilder, doch zeigten sie nichts, was man nicht auch auf Hämatoxylinpräparaten sehen kann. Die Dahliapräparate wurden zum Teil mit Eosin oder Orange G nachgefärbt.

Mit der FLEMMING'schen Färbung (Safranin-Gentianaviolett-Orange G) erhielt ich keine günstigen Resultate; ich habe übrigens diese Färbung nur auf Schnitte von Eisessig-Alkohol-Material angewandt; vielleicht hängt der mangelhafte Erfolg hiermit zusammen.

Es bleibt nur noch zu erwähnen, daß ich auch mit Erfolg die HEIDENHAIN'sche Eisenhämatoxylinfärbung anwandte, und zwar sowohl nach Bordeaux R als auch vor Säurefuchsin.

Übersicht über den Entwicklungscyclus von Orcheobius herpobdellae.

Bevor ich mich zur genaueren Darstellung des Entwicklungsganges von *Orcheobius* wende, möchte ich eine kurze Übersicht über denselben hier einschalten.

Die jüngsten Infektionsstadien beobachtete ich nur im Frühjahr, und zwar von Anfang April ab. Die Art, wie die Infektion erfolgt, gelang mir leider nicht festzustellen. In den Hoden, und zwar innerhalb der Cytophoren, findet zunächst eine Fortpflanzung durch gleichzeitigen Zerfall (Schizogonie) der durch wiederholte Zweiteilnng des Kerns vielkernig gewordenen Schizonten in 12–20 Tochterindividuen (Merozoiten) statt. Man findet die entsprechenden Stadien von Anfang April bis Mitte Mai. Dann werden die freigewordenen Merozoiten von den im Hoden reichlich vorhandenen Lymphocyten aufgenommen und wachsen, von ihnen umhüllt, zn Makrogameten und Mikrogametocyten heran. Aus jeder Mikrogametocyte bilden sich vier Mikrogameten, ähnlich wie dies von verschiedenen anderen Coccidien beschrieben wurde. Nach vollzogener Kopulation der Makro- und Mikrogameten encystiert sich die Zygote und zerfällt in etwa 25—30 Sporocysten (Sporogonie), deren jede vier Sporozoiten nnd einen ansehnlichen Restkörper enthält. Die Kopulation erfolgt in der Zeit von Anfang Juni bis etwa zum 20. Juli; die reifen Oocysten findet man im Hoden der Herpobdellen von Anfang Jnui bis Anfang Angust. Im August gehen viele Herpobdellen zngrunde. Von Mitte August bis Ende März wnrden keine infizierten Herpobdellen gefunden.

Schizogonie.

Wie schon erwähnt, wurden die frühesten Stadien des *Orcheobius* Anfang April aufgefunden. Die jnngen Parasiten liegen im Hoden innerhalb von Cytophoren, welche mit Spermatiden oder Spermatozoen dicht besetzt sind, und zwar liegen sie in Vakuolen, die wenig größer sind als sie selbst (vgl. Fig. 22). Meist liegt nur ein Parasit in einem Cytophor, doch kommt bisweilen auch Doppelinfektion vor.

Zur Untersuchung dieser Stadien sind im allgemeinen Schnitte von etwa 15 μ Dicke vorteilhafter als gefärbte Totalpräparate, da die Untersuchung der Parasiten durch die viel Chromatin enthaltenden Spermatozoen oder Spermatiden, welche die Cytophoren nmgeben, erschwert wird. In Schnitten von der angegebenen Dicke findet man häufig die Orcheobien selbst unverletzt, während über und unter ihnen die chromatinreiche Hülle von den Cytophoren abgeschnitten ist. Natürlich muß man daneben auch dünnere Schnitte stndieren.

Die heranwachsenden Schizonten (Fig. 1 u. 22), haben eine längliche Form; das eine Ende ist etwas zugespitzt, das andere mehr abgerundet. Das Protoplasma ist ziemlich stark lichtbrechend; es zeigt eine sehr feinwabige Struktur (Fig. 22), die man leider nur

auf gefärbten Schnitten erkennen kann, da ihre Beobachtung am lebenden Schizonten durch das ihn umgebende etwa 30 μ dicke Cytophor unmöglich gemacht wird. Das Plasma enthält neben feinsten, in den Ecken des Wabenwerks liegenden Körnchen keinerlei gröbere Granulationen.

Ziemlich in der Mitte liegt der Kern, der am lebenden Objekt (Fig. 1) nur als heller Fleck wahrnehmbar ist. In gefärbten Präparaten (Fig. 22) erkennt man, daß er im Centrum einen relativ sehr großen, kugligen Binnenkörper enthält, der sich mit Delafield'schem Hämatoxylin hellviolett, mit Hämatoxylin und Kaliummonochromat (nach Vorfärbung mit Boraxkarmin) schiefergrau färbt. Da er sich mit Hämatoxylin dunkler tingiert als der weiter unten zu besprechende Binnenkörper der Makrogameten und der jüngeren Mikrogametocyten, so vermute ich, daß er aus einer Mischung von Chromatin und Plastin hervorgegangen ist; leider konnte jedoch von seiner Bildung nichts beobachtet werden. Mitunter waren im Binnenkörper kleine Vakuolen zu bemerken, wie sie auch aus den Binnenkörpern anderer Coccidien bekannt geworden sind. Dem Binnenkörper ist eine größere Anzahl kleiner Chromatinkörnchen dicht angelagert, in einer kaum färbbaren schmalen Zone, die nur aus einer Wabenschicht besteht. Eine membranöse Abgrenzung dieser Zone gegen das umgebende Plasma konnte nicht wahrgenommen werden; trotzdem bin ich, mit Rücksicht auf die Lage der Chromatinkörner, der Ansicht, daß sie zum Kern gehört und dem Hohlraum der bläschenförmigen Kerne anderer Zellen entsprechen dürfte. Der Schizontenkern von *Orcheobius herpobdellae* hat demnach einen ähnlichen Bau, wie ihn der Schizontenkern von *Eimeria*[1]) *schubergi* vorübergehend auf dem Stadium zeigt, das Schaudinn (1900) in seinen Figuren 4, 26 und 27 abbildet. Die jungen Schizonten wachsen in den Cytophoren heran. Wenn sie eine gewisse Größe erreicht haben, runden sie sich ab, und es erfolgt als Einleitung zur Schizogonie eine Zweiteilung des Kerns. Von dieser ersten Kernteilung wurde leider nur ein sehr frühes Stadium gesehen (vgl. Fig. 23). Der Binnenkörper war in die Länge gestreckt, senkrecht zur Achse des noch nicht völlig abgerundeten Zellkörpers, und die Chromatinkörner hatten sich an beiden Polen des Binnenkörpers angesammelt. Mitunter ist die erste Kernteilung vollendet, bevor der junge Schizont sich völlig abgerundet hat. Ähnliches wurde übrigens auch von Schaudinn (1900) bei *Eimeria schubergi* gelegentlich beobachtet.

[1]) Betreffs der Nomenklatur der Gattungen und Arten verweise ich auf Lühe (1903).

Nach der ersten Teilung begeben sich die zwei Teilkerne dicht unter die Oberfläche der Zelle (Fig. 24). Ihre Form ist etwa kuglig; sie enthalten einen centralen Binnenkörper, dem eine Anzahl von Chromatinkörnchen angelagert ist, welche ihn mitunter vollständig umhüllen, mitunter dagegen etwas exzentrisch liegen (Fig. 24). Vielleicht ist diese letztere Erscheinung der Ausdrnck der soeben erst vollzogenen Teilung. Zwischen den einzelnen Chromatinkörnern findet sich ein Netz von feinen Verbindnngsfäden, welche dem Binnenkörper dicht anliegen. Sie färben sich mit Delafield'schem Hämatoxylin, wenn anch etwas schwächer als die Chromatinkörnchen, so doch immerhin recht deutlich, sind also chromatischer Natur. Wenn man die Lösung konzentrierter anwendet, als oben (S. 385) angegeben wurde und nicht sehr stark extrahiert, ist die Färbung der Fäden sogar so stark, daß die Körnchen nnr als leichte Verdickungen in den Knotenpunkten des Netzwerkes erscheinen. Bei Anwendung stark verdünnter Lösungen von Delafield'schem Hämatoxylin dagegen sind die Körnchen sehr dentlich sichtbar, ebenso bei Färbnng mit Boraxkarmin, Hämatoxylin nnd Kaliummonochromat (Fig. 24) nnd bei Behandlung mit Heidenhain'schem Eisenhämatoxylin. Bei Anwendnng letzterer Methode werden, wenn genügend extrahiert wurde, die Fäden ganz farblos, während die Chromatinkörnchen den Farbstoff nicht leicht abgeben, so daß sie äußerst deutlich hervortreten.

Auf die erste Kernteilung folgen wiederholte Teilnngen der Tochterkerne, bis der Schizont etwa 12—20 Kerne enthält. Auch während dieser Stadien bleiben die Kerne stets so dicht nnter der Oberfläche liegen, daß sie nur von einer ganz dünnen Plasmaschicht bedeckt sind. Sowohl während der Kernteilungen als anch auf den dazwischen eingeschalteten Ruhestadien sind die oben erwähnten, zwischen den Chromatinkörnchen ausgespannten Verbindungsfäden vorhanden.

Während der Rnhe sind die Kerne auf den späteren Stadien der Schizogonie überhaupt ähnlich gebaut wie auf dem zweikernigen Stadium. Ihre Form ist etwa knglig (Fig. 25 nnd 26); eine centrale, durch Teilung des Binnenkörpers entstandene Masse ist von einem Chromatinnetz umgeben, dessen Ecken verdickt sind, resp. in dessen Ecken eine Anzahl (meist 8) relativ großer Chromatinkörner liegen. (Auf den Figuren konnten natürlich niemals alle 8 Chromatinkörner eingezeichnet werden, da sie sich zum Teil gegenseitig verdecken.) Auf diesen späteren Schizogoniestadien ist die aus dem Binnenkörper hervorgegangene centrale Masse bei Färbung mit Delafield'schem Hämotoxylin nicht mehr zu erkennen, da sie von dem stark färb-

baren Chromatin verdeckt wird (Fig. 26), während sie selbst fast nngefärbt bleibt, worans hervorgeht, daß sie jetzt kein Chromatin mehr enthält. Dagegen erscheint sie als kompakte hellrötliche Kugel, wenn man die Präparate mit Bordeanx R und darauf nach der HEIDENHAIN'schen Eisenhämatoxylin-Methode behandelt. Vakuolen sind auf diesem Stadinm in ihr nicht vorhanden. Die geschilderten Kerhbestandteile liegen direkt im Plasma; ein Kernhohlraum oder gar eine Kernmembran ist nicht wahrzunehmen.

Die Kernteilungen der späteren Schizogoniestadien wurden häufig beobachtet. Ihr Verlanf ist sehr einfach. Spindelfasern oder Chromosomen treten nicht auf. Es streckt sich einfach der ganze Kern, sowohl die vom Binnenkörper herstammende centrale Masse als das umgebende Chromatin, in die Länge (Fig. 26); er schnürt sich dann durch, wie die Fig. 25 und 27 zeigen, nnd die beiden Teilstücke rücken, indem sie dicht unter der Oberfläche liegen bleiben, auseinander. Ein Zwischenkörper wurde nicht gesehen. — Es handelt sich also nm eine sehr einfache direkte Kernteilung.

Dadurch, daß die Kerne der Merozoiten ans dem Schizontenkern durch wiederholte Zweiteilung hervorgehen, weicht *Orcheobius herpobdellae* von einer Anzahl ihm sonst nahe verwandter Coccidien ab; bei *Klossia helicina* nämlich (nach LAVERAN 1898) sowie bei den verschiedenen *Adelea*-Arten (SIEDLECKI 1899 A, PÉREZ 1899 nnd 1903, LÉGER 1904 B) findet an der entsprechenden Stelle eine mnltiple Kernteilung statt. Dagegen stimmt *Orcheobius* in dieser Hinsicht z. B. überein mit den von SCHAUDINN (1900 und 1902) untersnchten *Eimeria schubergi* und *Cyclospora caryolytica*. Doch weicht die Art der Kernteilung bei der Schizogonie dieser Formen in ihren Einzelheiten nicht unwesentlich ab von dem, was bei *Orcheobius* festgestellt werden konnte. Zwar bleibt bei dieser Form ebenso wie bei den zwei erstgenannten der Binnenkörper während der Kernteilung erhalten, doch gibt er im Gegensatz zn ihnen sein Chromatin ab; ferner ist er bei *Orcheobius* relativ größer. Das Wesentlichste ist wohl, daß bei *Eimeria schubergi* und *Cyclospora caryolytica* der Binnenkörper die Rolle eines Nukleolo-Centrosoms spielt, was bei *Orcheobius* keineswegs der Fall ist; ferner tritt bei beiden von SCHAUDINN nntersuchten Formen ein Zwischenkörper anf, bei *Orcheobius* dagegen nicht.

Erwähnenswert dürfte wohl sein, daß, wie wir noch sehen werden, in der ganzen Entwicklung von *Orcheobius herpobdellae* eine multiple Kernteilnng überhaupt nicht vorkommt, während bei den zwei genannten Formen und bei *Eucoccidium eberthi*, dem die Schizogonie

nach Siedlecki's (1898) Untersuchungen fehlt, wenigstens vor der Mikrogametenbildung eine multiple Kernteilung erfolgt. Das einzige bisher vollständig untersuchte Coccidium, bei dem der Kern sich nur durch Zweiteilnng vermehrt, scheint *Caryotropha mesnili* zu sein nach Siedlecki (1902).

Wenn die Anzahl der Kerne 12—20 beträgt, beginnt die Zellteilung. Die Kerne wölben, zunächst unregelmäßig nach allen Seiten, das sie umgebende Plasma etwas über die Oberfläche des Schizonten vor (Fig. 28). Dann entstehen zwischen den einzelnen Vorwölbungen Furchen, welche ziemlich tief in das Plasma eindringen und alle einigermaßen parallel verlaufen, also alle auf der gleichen Halbierungsebene des Schizonten senkrecht stehen, welcher sie sich von zwei Seiten her nähern. Dadurch, daß diese Furchen sich immer weiter vertiefen, werden die einzelnen Merozoiten, deren jeder einen Kern enthält, allmählich voneinander gesondert. Da ihre distalen Enden anfangs nach allen Seiten hervorragten, jetzt aber uur nach zwei Seiten, so muß bei Beginn der Furchenbildung eine Umordnuug der distalen Enden erfolgt sein. Während die Furchen sich vertiefen, rücken die Kerne allmählich von den distalen Enden fort. Es entstehen so die Gebilde, welche die Figuren 2 nnd 29 zeigen und die durch Pérez (1903) anch von *Adelea mesnili* bekannt geworden sind. Mitunter verläuft der Prozeß anch etwas nnregelmäßiger (Fig. 3). Wenn die Furchen von beiden Seiten her vollständig durchgedrnngen sind, trennen sich die Merozoiten voneinander. Ein Restkörper bleibt nicht zurück. Im Gegensatz zu der Kernteilung ist also die Teilung des Zellkörpers eine simultane. Nach Beendigung der Schizogonie liegen die Merozoiten in einer relativ engen Vaknole des befallenen Cytophors in einem Bündel, in welchem sie nicht radiär wie etwa bei *Eimeria schubergi* (nach Schaudinn 1900), sondern parallel angeordnet sind (vgl. Fig. 30). Es erinnert das stark an die von vielen Coccidien bekannt gewordenen „stades en barillet“ der französischen Forscher.

Zu Anfang April findet man nur sehr vereinzelte Orcheobien in den infizierten Herpobdellen. Später dagegen sind diese häufig sehr stark infiziert. Es ist daher zu vermuten, daß die Schizogonie sich mehrmals wiederholt wie bei anderen Coccidien. Diese Annahme wird gestützt durch die Tatsache, daß die Schizogoniestadien etwa einen Monat lang, von Anfang April bis etwa zum 10. Mai, beobachtet werden könneu, und daß während dieser ganzen Zeit noch keine der weiter unten zu beschreibenden Stadien auftreten. Immerhin kann man es auch für möglich halten, daß die Masseninfektionen

durch wiederholte Neuinfektion hervorgebracht werden (eine reife Sporocyste enthält über 100 Sporozoiten!), weshalb ich hierüber keine bestimmten Angaben machen kann. Wie die Merozoiten, an denen ich keinerlei Bewegung beobachten konnte, im Falle der Wiederholung der Schizogonie von einem Cytophor in andere gelangen könnten, ist mir nicht verständlich. Ein Unterschied zwischen späteren und früheren Schizogonien übrigens, wie ihn Schaudinn (1900) von *Eimeria schubergi* beschreibt, ist jedenfalls nicht vorhanden; ebensowenig konnte ich während der Schizogonie irgend welche sexuelle Differenzierung erkennen, worauf ich noch zurückkommen werde.

Die Merozoiten.

Die Merozoiten (Fig. 4 und 31) haben eine längliche Gestalt; ihre beiden Enden sind gleichmäßig gebildet, nämlich leicht abgerundet. Ihre Struktur ist äußerst feinwabig, gröbere Einschlüsse sind im Plasma nicht vorhanden. Der Kern liegt ungefähr in der Mitte und ist im Leben schon als heller Fleck nachweisbar. Während des Zerfalls des Schizonten in die Merozoiten sind die Verbindungen zwischen den Chromatinkörnern auch mit Delafield'schem Hämatoxylin schwach färbbar geworden, so daß auch bei dieser Färbung die vom Binnenkörper herstammende centrale Masse wieder deutlich hervortritt, umgeben von einer Anzahl, meist etwa 8, gröberer Chromatinkörner. Der Binnenkörper ist auch auf diesem Stadium mit Delafield'schem Hämatoxylin kaum färbbar.

Die jungen Merozoiten der letzten Generation konnte ich in der ersten Hälfte des Mai häufig frei in der Hodenflüssigkeit beobachten. In ihnen ist die zwischen den Chromatinkörnern liegende centrale Masse mit Delafield'schem Hämatoxylin kaum, mit Eosin sehr deutlich färbbar; der Binnenkörper hatte sein Chromatin, wie schon oben bemerkt wurde, während der Schizogonie-Kernteilungen abgegeben. — Die etwa 8 groben Chromatinkörner lagern sich ihm sehr bald häufig etwas exzentrisch an (Fig. 33). Bei etwas älteren Merozoiten erkennt man dann an der von Chromatinkörnern freien Seite des Binnenkörpers, daß an seiner Oberfläche eine dünne, membranartige Schicht sich ausgebildet hat (Fig. 33), die sich mit Delafield'schem Hämatoxylin und anderen Kernfarbstoffen deutlich färbt, also chromatischer Natur ist. Es ist also jetzt wieder ein aus Plastin und Chromatin bestehender Binnenkörper vorhanden. Die dünne chromatische membranartige Schicht dürfte wohl der äußeren, aus Chromatin bestehenden, jedoch weit dickeren Zone entsprechen,

welche von dem Binnenkörper mehrerer anderer Sporozoen bekannt geworden ist, z. B. durch Siedlecki (1898) von *Eucoccidium eberthi.*[1]) Das bei letzterer Art von dem genannten Forscher beobachtete „sekundäre Caryosom" habe ich bei *Orcheobius herpobdellae* nicht beobachtet.

Wie erwähnt, zeigen die Merozoiten weder in physiologischer Kochsalzlösnng noch in Eiweißlösung irgend welche Bewegung. Diese Unbeweglichkeit anf ungünstige Einwirknngen dieser Flüssigkeiten zurückznführen, erscheint nicht angezeigt, da sich die reifen Sporozoiten, wie nnten näher geschildert werden soll, in beiden längere Zeit lebhaft bewegen. Die eigenartige Lebensweise des Parasiten macht auch eine aktive Bewegung der Merozoiten überflüssig; die späteren Stadien finden sich nämlich in Lymphocyten, und man kann wohl annehmen, daß die Merozoiten, nachdem sie auf eine leider nicht ergründete Weise aus den Cytophoren herausgelangt sind, von den reichlich im Hoden flottierenden Lymphocyten mit Hilfe von deren Pseudopodien gleich anderen Fremdkörpern aufgenommen werden, wobei sie selbst sich vollkommen passiv verhalten. In der Regel scheint diese Aufnahme erst stattzufinden, wenn die Merozoiten etwas herangewachsen sind; wenigstens fanden sich sehr häufig freie Merozoiten, die erheblich größer waren als die eben erst ans der Teilung hervorgegangenen. Es ist anch nicht ganz ausgeschlossen, daß manche Merozoiten überhaupt nicht von Lymphocyten aufgenommen werden, sondern frei im Hoden sich weiter entwickeln; doch kann ich hierüber keine bestimmten Aussagen machen. Sehr selten wurde in einer Lymphocyte ein einzelner Merozoit gesehen, fast stets eine ganze Anzahl. Ältere Stadien wnrden sogar niemals einzeln in Lymphocyten liegend gefunden, so daß man annehmen kann, daß eine Lymphocyte, die von einem einzelnen Parasiten befallen wird, diesen zu vernichten vermag, während sie bei mehrfacher Infektion (Fig. 5, 6, 7, 36) hierzu nicht imstande ist. Übrigens werden auch die Cytophoren, wenn die reifen Spermatozoen sich von ihnen losgelöst haben, von den Lymphocyten aufgenommen, und es kommt auch vor, daß man in der gleichen Lymphocyte neben einem Cytophor eine Anzahl Orcheobien findet. Ein solcher Fall wurde in Fig. 6 abgebildet; hier ist das Cytophor (*cy*) bereits ziemlich stark durch die Einwirkung der Lymphocyte verändert.

[1]) Die Arbeit von Th. Moroff (Compt. Rend. de l'Acad. des Sci. 1906), in welcher dieser die Zugehörigkeit von *Eucoccidium* zu den Coccidien bestreitet, kam mir leider erst während des Drucks meiner Arbeit zu Gesicht.

Die Lymphocyten enthalten stets eine Anzahl unregelmäßig angeordneter Vakuolen, und in solchen liegen auch die aufgenommenen Merozoiten. Letztere wachsen allmählich heran, wobei die ursprünglich sehr kleine Lymphocyte ziemlich stark gedehnt wird. Zuletzt bildet sie nur noch eine ganz dünne membranartige Hülle um die ausgewachsenen Parasiten. Ob ihnen das Plasma ihrer Wirtszelle in der ersten Zeit zur Nahrung dient, muß dahingestellt bleiben. Im wesentlichen können sie die zu ihrer erheblichen Vergrößerung erforderliche Nahrung sicherlich nicht aus den winzigen Lymphocyten, sondern nur aus der sie umgebenden Hodenflüssigkeit erhalten. *Orcheobius herpobdellae* erinnert dadurch an Gregarinen, die ja allgemein ihre Nahrung aus der Flüssigkeit der Körperhöhlen beziehen, in denen sie leben. Der Kern der Lymphocyten bleibt in der Regel sehr lange erhalten und ist meistens etwas vergrößert.

Die Makrogameten.

Nachdem die heranwachsenden Merozoiten von den Lymphocyten aufgenommen worden sind, erfahren sie in ihrem Innern beträchtliche Veränderungen, besonders im Kern: Die Wabenschicht, die dem Binnenkörper unmittelbar anliegt, war bisher (Fig. 32) von dem übrigen Protoplasma nicht zu unterscheiden. Allmählich jedoch werden die Waben dieser Schicht deutlich größer und auch dünnwandiger (Fig. 34); sie liefern den Hohlraum des allmählich bläschenförmig werdenden Kerns, der sich jetzt mit einer deutlichen Kernmembran scharf gegen das umgebende Protoplasma abgrenzt.

Etwas über die Hälfte der Orcheobien, jene nämlich, welche später zu Mikrogametocyten werden, bleiben bald im Wachstum zurück, während die übrigen, aus denen die Makrogameten hervorgehen, sich rasch weiter entwickeln (Fig. 6, 7, 34, 35). Diese vergrößern sich, wobei sie in der Längsrichtung stärker wachsen als im Querschnitt, und krümmen sich häufig ein. Der Kern vergrößert sich ebenfalls und nimmt immer deutlicher bläschenförmige Gestalt an. In dem Binnenkörper der jungen Makrogameten zeigen sich Vakuolen; man erkennt, daß er einen deutlich wabigen Bau hat (Fig. 34); die dünne chromatische Rindenschicht (s. o. S. 391) ist ringsum deutlich nachweisbar; die Chromatinkörner, welche dem Binnenkörper in beschränkter Zahl anlagen, zerfallen allmählich in eine ganze Anzahl zum Teil sehr feiner Körnchen, welche sich im ganzen Kern verteilen und sich besonders an der Oberfläche des Binnenkörpers und an der Kernmembran vorfinden (Fig. 35). Im

Plasma treten gewisse Einlagerungen anf, die weiter unten noch näher besprochen werden sollen.

Die ausgewachsenen Makrogameten (Fig. 37) haben nicht die gewöhnliche Form einer Coccidie, sondern sie sind ähnlich wie eine *Monocystis* gebaut, an die sie ja anch, wie oben schon bemerkt wurde, durch ihre Ernährung erinnern; sie sind jedoch nnbeweglich. Sie haben ausgestreckt eine Länge von etwa 180 μ; ihre größte Breite beträgt etwa 30 μ. Nicht alle findet man in gestreckter Lage, wie in Fig. 8; viele sind mehr oder weniger gekrümmt (Fig. 10, 37). Schon Brasil (1904 B) beschrieb übrigens ein Coccidinm, *Angeiocystis audouiniae*, dessen Länge (50 μ) mehr als dreimal so groß ist als sein Durchmesser (15 μ), das also seiner Gestalt nach an eine *Monocystis* erinnert.

Die Makrogameten von *Orcheobius* sind erfüllt mit ziemlich großen Körnchen, deren Dnrchmesser etwas über 1 μ beträgt. Diese liegen dicht aneinander gedrängt in einer homogenen Plasmamasse, in der man keine Alveolen erkennen kann. Sie brechen das Licht ziemlich stark. Die lebenden Makrogameten erscheinen daher bei schwacher Vergrößerung im dnrchfallenden Lichte als langgestreckte, wurmförmige schwarze Körper; im auffallenden Lichte dagegen erscheinen sie weiß, nnd daher rührt die ganz oben (S. 382) erwähnte milchig weiße Färbung der betreffenden Partie der infizierten Wirtstiere.

Die Körnchen färben sich mit den meisten angewandten Farbstoffen nicht; in gefärbten, in Kanadabalsam eingeschlossenen Präparaten entziehen sie sich im allgemeinen dnrch ihre Aufhellung der Wahrnehmung. Die Präparate täuschen daher eine grobwabige Struktur vor; in Wirklichkeit sind jedoch die Wabenränme vollständig von den Körnchen ausgefüllt. Während die entsprechenden Körnchen anderer Coccidien, die von den meisten Forschern als „plastische Granula" bezeichnet werden, sich nach Labbé (1896) mit Eosin, Aurantia nnd Pikrinsänre, nach Schaudinn (1900) mit Eosin, Anrantia nnd Thionin färben, bleiben die von *Orcheobius herpobdellae* bei Behandlung mit fast allen oben (S. 6 bis 10) erwähnten Farbstoffen ungefärbt. Sie nähern sich in diesem Verhalten den Körnchen von *Isospora lieberkühni*, die nach den Angaben von Laveran und Mesnil (1902 A) ebenfalls mit Osmiumsänre nnd auch mit Eosin sich nicht färben. Der einzige angewandte Farbstoff, den die Körnchen anfnehmen, ist das Bismarckbrann, durch welches sie eine gelbbraune Färbung annehmen. Sehr lehrreich sind daher Schnitte, die mit Boraxkarmin (zur Chromatinfärbung), mit

Bleu de Lyon (zur Färbnng des Plasmas und des Plastinteils des Binnenkörpers) und mit Bismarckbraun behandelt wurden.

Bei Einwirkung von Jod färben sich die Körnchen gelbbraun; wenn man außerdem Schwefelsäure einwirken läßt, nehmen sie eine dunkelbraunviolette Farbe an. Sie unterscheiden sich hierdurch ebenfalls von den Körnchen, die SCHAUDINN (1900) von *Eimeria* und *Adelea* beschrieben hat, und die bei nachträglichem Zusatz von Schwefelsäure die gelbe Farbe behalten, die sie unter der Einwirkung der Jodlösung angenommen hatten. Dagegen stimmen sie ziemlich genau überein mit den Körnchen von *Klossia helicina*, welche nach KLOSS (1855) durch Jod gebräunt werden und, wenn man außerdem Schwefelsäure einwirken läßt, eine schwarze Färbung annehmen, welche beim Auswaschen mit Wasser in eine blaue bis violette Färbung übergeht. Ebenso verhalten sich die Körnchen des *Orcheobius* sehr ähnlich wie die der Gregarinen, welche von BÜTSCHLI (1871, 1885 und 1903) und MAUPAS (1886) untersucht wurden. Diese färben sich bei Behandlung mit Jod nach BÜTSCHLI braunrot bis braunviolett, nach MAUPAS gelbbraun; bei darauf folgendem Zusatz von Schwefelsäure quellen sie und werden nach BÜTSCHLI weinrot bis veilchenblau, nach MAUPAS violettlila. BÜTSCHLI schloß 1885 aus diesen Reaktionen auf eine Verwandtschaft des Stoffes, aus dem die Körner bestehen, mit dem Glycogen und nannte denselben Paraglycogen. MAUPAS (1886) dagegen stellte ihn mehr in die Nähe der Stärke und schlug den Namen Zooamylum vor; ihm schloß sich BÜTSCHLI 1903 an. Es dürfte wohl angebracht sein, obwohl weitere Reaktionen nicht ausgeführt wurden, auch die Körnchen des *Orcheobius* als Zooamylumkörner zu bezeichnen.

In neuerer Zeit haben sich BRAULT und LOEPER (1904) mit den entsprechenden Körnchen des Kanincheucoccidiums, *Eimeria stiedae*, beschäftigt. Die Tatsache, daß die Körnchen sich bei Behandlung mit Jod braun färben, — weitere Reaktionen werden nicht angegeben — dient ihnen als sicherer Beweis dafür, daß sie aus Glycogen bestehen. Die Arbeiten von BÜTSCHLI und MAUPAS über die Gregarinen werden nicht erwähnt, obwohl BRAULT und LOEPER ihre beim Studium eines Coccidiums erworbene Meinung nicht nur auf verwandte Formen ausdehnen, sondern auf p. 726 erklären: „La description de la glycogénèse chez les coccidies peut servir de type pour les différentes espèces de protozoaires.“

Wie gesagt, entziehen sich die Zooamylumkörnchen von *Orcheobius* in Kanadabalsampräparaten, die nicht mit Bismarckbraun gefärbt sind, im allgemeinen der Wahrnehmung. Doch machen sie sich

mitunter indirekt dadurch bemerkbar, daß in ihrem Innern mit Gas erfüllte Spaltenräume auftreten, die dann natürlicherweise durch ihre optischen Eigenschaften das Studium der Kernverhältnisse in der lästigsten Weise beeinträchtigen können. Diese Spalten wurden häufiger in Totalpräparaten und dicken Schnitten (20 μ und darüber), sehr selten in dünnen Schnitten (10 μ und darunter), beobachtet. Ich vermag nicht zu entscheiden, ob diese Verschiedenheit auf Zufall beruht oder ob sie irgend welche bestimmten Ursachen hat. Welcher Natur diese Ursachen sein könnten, ist mir ebenfalls völlig unklar.

Zwischen diesen Zooamylumkörnern finden sich im Plasma der herangewachsenen Makrogameten kleinere Körnchen, die sich mit Delafield'schem Hämatoxylin tief rot färben. Sie sind wohl den von zahlreichen anderen Sporozoen bekannt gewordenen Körnchen zu vergleichen, welche Schaudinn (1900) als hämatoxylinophile Granula bezeichnet hat. Ganz ähnliche Körnchen finden sich übrigens auch bei anderen Protozoen und Protophyten und wurden von Bütschli (1890) als „rote Körnchen", von Meyer (1904) als „Volutinkugeln" bezeichnet.

Etwa in der Mitte des herangewachsenen Makrogameten liegt der ziemlich große, bläschenförmige Kern (Fig. 37n), der auch am lebenden *Orcheobius* meist als heller Fleck deutlich sichtbar ist (Fig. 8). Er nimmt fast die ganze Breite der Zelle ein und ist durch eine deutliche Kernmembran vom umgebenden Plasma abgegrenzt. Der im Zentrum des Kerns gelegene Binnenkörper hat sich wenig verändert; sein Durchmesser beträgt etwa 6 μ; die äußere chromatische Zone ist äußerst dünn, in seinem Innern befinden sich einige Vakuolen. Außerhalb des Binnenkörpers findet sich ein Liningerüst; in diesem sowohl, als auch unmittelbar dem Binnenkörper und der Kernmembran angelagert, beobachtet man eine große Zahl kleinerer und größerer, zum Teil ganz feiner staubförmiger Chromatinkörnchen.

Mikrogametocyten.

Ähnlich wie die Makrogameten entwickeln sich auch die Mikrogametocyten (Fig. 6—8; 34—37); doch finden sich eine Anzahl von Abweichungen. Es wurde schon erwähnt, daß sie bedeutend langsamer wachsen und kleiner bleiben als die Makrogameten.

Im Kern treten schon sehr früh, nachdem er bei den Mikrogametocyten ähnlich wie bei den Makrogameten bläschenförmig geworden ist und eine Kernmembran erhalten hat, nicht unerhebliche

Unterschiede auf. Der Binnenkörper der Mikrogametocyten ist schon auf frühen Stadien nicht nur absolut, sondern auch im Verhältnis zur Größe des ganzen Kerns kleiner als der der Makrogameten (Fig. 34). Die chromatische Rindenschicht, welche bei allen älteren, aber noch undifferenzierten Merozoiten sichtbar ist, verschwindet bei den jungen Mikrogametocyten sehr bald wieder (Fig. 35). Die Bildung von winzigen Vakuolen im Binnenkörper ist nur schwer, oft gar nicht zu erkennen. Die großen Chromatinkörnchen dagegen bleiben noch längere Zeit erhalten, ohne wie bei den Makrogameten zu zerfallen; sie verteilen sich im ganzen Kern.

In den heranwachsenden Mikrogametocyten treten auch Zooamylumkörner und hämatoxylinophile Granula auf, und zwar stimmen letztere mit denen der Makrogameten völlig überein; erstere dagegen sind bedeutend kleiner — ihr Durchmesser ist kleiner als 1 μ — und auch weniger dicht zusammengedrängt als die Zooamylumkörner der Makrogameten.

Wenn die Mikrogametocyten ausgewachsen sind, sind sie etwa 50 μ lang und an der breitesten Stelle 12 μ breit; sie sind also ganz bedeutend kleiner als die Makrogameten; außerdem ist ihre Gestalt gedrungener.

Im Kern sind die groben Chromatinkörner, wenn auch später als bei den Makrogameten, doch schließlich in eine große Anzahl von feinen Körnchen zerfallen, die fast den ganzen Kern der Mikrogametocyte ausfüllen. Vorübergehend ordnen sie sich sternförmig an (Fig. 37) Der Binnenkörper ist ganz von den dichten Chromatinmassen verdeckt.

Bildung der Mikrogameten.

Mikrogametocyten und Makrogameten bleiben längere Zeit auf dem geschilderten Stadium stehen. Dann beginnen zunächst die Mikrogametocyten sich zusammenzuziehen, indem augenscheinlich von beiden Enden her Plasma nach der Mitte zu fließt und sich dort an einer Seite des Kerns ansammelt. An der anderen Seite bleibt der Kern dicht unter der Oberfläche liegen (Fig. 9). Dieser Prozeß setzt sich so lange fort, bis die Zelle Kugelform angenommen hat.

Schon vor Beginn der Abrundung haben die Chromatinkörnchen, die vorher fast den ganzen Kern erfüllten, sich etwas mehr in dessen Mitte zurückgezogen. Sie liegen dort dicht zusammengedrängt und durch ein schwer sichtbares Liningerüst miteinander verbunden. Der Binnenkörper wird vorübergehend wieder sichtbar

(Fig. 38 bk); dann geht er auf eine nicht näher ermittelte Art zugrunde.

Jetzt ist der Kern zur Teilung bereit: Er streckt sich in die Länge und legt sich dabei platt der Oberfläche an; die Kernmembran wird hierbei rückgebildet. Die Chromatinkörnchen, welche jetzt fast den ganzen Raum des Kerns einnehmen, bilden zusammen eine der Zelloberfläche dicht anliegende, flache, langgestreckte Platte. In dieser findet eine Umformung des Chromatins statt, indem es zunächst parallel angeordnete klumpige Fäden bildet (Fig. 39). Darauf schnürt die Chromatinplatte sich hantelförmig ein, wobei das gesamte Chromatin zu zwei miteinander verbundenen, wabig gebauten Chromatinklumpen verschmilzt (Fig. 40). Dann trennen beide Teile des hantelförmigen Kerns sich völlig voneinander. Es findet also eine höchst einfache direkte Kernteilung statt. Beide Teilkerne rücken ein Stück auseinander, dann erfolgt, ebenfalls in direkter Weise, eine zweite Kernteilung. Man findet Kernteilungsstadien in den Mikrogametocyten äußerst selten, was darauf schließen läßt, daß die Teilungen sehr rasch vor sich gehen. Die in der geschilderten Weise entstandenen vier Kerne bleiben dicht unter der Oberfläche der Mikrogametocyte liegen. Dann wölben sie sich etwas über die Oberfläche der Mikrogametocyte vor (Fig. 12), und es lösen sich vier Mikrogameten von dieser los. Die Art und Weise ihrer Bildung habe ich nicht genauer studiert; ich kann nur mitteilen (was nach den Untersuchungen an anderen Coccidien fast selbstverständlich erscheint), daß zur Bildung jedes der vier Mikrogameten einer der vier Kerne und sehr wenig Protoplasma verbraucht wird. Der relativ sehr große Rest der ihrer Kerne beraubten Mikrogametocyte ist noch längere Zeit hindurch in der Nähe der Makrogameten, resp. der in Sporulation befindlichen Oocysten nachweisbar, dann zerfällt er allmählich.

Die Mikrogameten (Fig. 13) habe ich ziemlich häufig, sowohl im Leben als auch auf Schnitten, beobachten können. Sie bestehen fast nur aus Chromatin und sind im Leben ziemlich stark lichtbrechend. Ihre Gestalt ist spindelförmig, an beiden Enden zugespitzt; doch sind sie nicht völlig drehrund, sondern an einer Seite etwas abgeplattet. Ihre Länge beträgt etwa 4 μ, ihre größte Breite 2 μ. Vorn tragen sie zwei schräg nach hinten divergierende Geißeln, die dicht hinter der Spitze inserieren, welche ich mit Léger (1898 B) als Rostrum bezeichnen möchte; sie stimmen also u. a. mit den Mikrogameten überein, die v. Wasielewsky (1898) von *Eimeria stiedae*, Léger (1898 B) von *Baroussia caudata* und Laveran und Mesnil

(1902 A) von *Isospora lieberkühni* beschrieben haben. Bei den genannten Formen entspringen die Geißeln an der Spitze und sind vom Insertionspunkt an frei. Dagegen ist bei *Cyclospora caryolytica* nach Schaudinn (1902) die eine von beiden bis etwa zur Mitte des Mikrogametenkörpers mit diesem verwachsen. Bei einer Anzahl anderer Coccidien wird die Geißel erst am Hinterende frei, oder entspringt dort. Bei den Mikrogameten von *Eucoccidium eberthi* z. B. fehlen die Geißeln ganz (Siedlecki 1898).

Ich habe leider niemals eine Bewegung der Mikrogameten von *Orcheobius herpobdellae* beobachten können, weder in Eiweißlösung noch in physiologischer Kochsalzlösnng, doch muß wohl angenommen werden, daß ihnen eine vielleicht nur kurze Zeit andauernde Bewegungsfähigkeit zukommt.

In der Art der Befruchtung schließt sich *Orcheobius herpobdellae* an *Adelea* an (Schaudinn und Siedlecki 1897, Siedlecki 1899 A, Pérez 1899 nnd 1903, Léger u. Duboscq 1902 A p. 436—437 und 1903 A nnd Léger 1904 B), sowie an *Klossia helicina* (Laveran 1898) und *Legerella* (Bonnet-Eymard 1900 und Cuénot 1902), bei denen eine Aneinanderlagerung der Makrogameten und der Mikrogametocyten stattfindet und letztere vier Mikrogameten hervorbringen, während bei *Eucoccidium* und bei den Coccidien mit oktozoischer und tetrazoischer Oocyste zahlreiche Mikrogameten gebildet werden. Von *Adelea ovata* und *Legerella* unterscheidet sich *Orcheobius* dadurch, das Makrogameten und Mikrogametocyten bei ihm von völlig gleich gebauten Mutterzellen herstammen, während bei *Adelea* und *Legerella* (ebenso übrigens nach Schaudinn (1902) bei *Cyclospora caryolytica*, bei der zahlreiche Mikrogameten gebildet werden), die Mikrogametocyten und die Makrogameten aus verschiedenartigen Mutterzellen entstehen. Dagegen nähert sich *Orcheobius herpobdellae* in dieser Hinsicht der *Klossia helicina*, bei der nach Laveran (1898) die jungen Mikrogametocyten und Makrogameten sehr schwer zn unterscheiden sein sollen; welcher Art die Unterschiede sind, gibt Laveran übrigens nicht an, so daß Pérez (1903) zu der Ansicht gelangte, Laveran habe überhanpt einen Dimorphismus der Schizonten nicht beobachtet.

Ein anderer Unterschied zwischen *Adelea* einerseits, *Klossia* und *Orcheobius* andererseits ist es, daß bei der ersteren ein Wachstum der zu Mikrogametocyten sich entwickelnden männlichen Merozoiten der letzten Generation gar nicht (bei *Adelea ovata* nach Siedlecki 1899) oder nur in sehr geringem Maße (bei *Adelea mesnili* nach Pérez 1903 und bei *Adelea transita* nach Léger 1904 B) stattfindet, während bei *Klossia helicina* nnd *Orcheobius herpobdellae* ein

keineswegs unerhebliches Wachstum erfolgt. Zwar erreichen die Mikrogametocyten dieser Formen keineswegs die Größe der Makrogameten, wie es bei denjenigen Coccidien der Fall ist, bei welchen zahlreiche Mikrogameten an jeder Mikrogametocyte ausgebildet werden; immerhin kann man in dieser Erscheinung wohl eine gewisse Annäherung an diese letzteren Formen (*Eimeria* n. a.) erkennen.

Bei dieser Gelegenheit sei es gestattet, einen Vergleich der Mikrogametocyte von *Orcheobius herpobdellae* mit entsprechenden Stadien anderer Coccidien zu versuchen. Zweifellos ist zunächst, daß sie der Mikrogametocyte von *Adelea* homolog ist. Bei *Adelea ovata* nämlich, wo nach Siedlecki (1899 A) schon während der Schizogonie ein sexueller Unterschied besteht, lagern sich die männlichen Merozoiten der letzten Generation (Siedlecki gebraucht diese Bezeichnung nicht) den Makrogameten an, werden zu Mikrogametocyten und bringen je vier Mikrogameten hervor. Man könnte nun der Ansicht sein, daß die Bildung der Mikrogameten, welche bei vielen Coccidien, z. B. *Eimeria*, direkt an der Oberfläche einer „Coccidie adulte" (s. Siedlecki 1899 A) erfolgt, bei *Adelea* in zwei Phasen zerlegt ist, daß der Mikrogametocyte von *Eimeria* die Mutterzelle der Mikrogametocyten von *Adelea* entspricht und daß sich bei *Eimeria* nichts den Mikrogametocyten von *Adelea* vergleichbares findet. Es scheint, daß dies die Ansicht von Siedlecki (1899 A)[1]) und Laveran (1898)[2]) ist. Da aber die Mutterzelle der Mikrogametocyten von *Orcheobius* und anscheinend auch von *Klossia helicina* ein gewöhnlicher Schizont ist, so führt diese Ansicht zu der höchst unwahrscheinlichen Folgerung, daß die Mikrogametocyte von *Eimeria* dem letzten Schizonten von *Orcheobius* homolog ist, der sich durch nichts von den übrigen Schizonten unterscheidet. Es dürfte daher wohl richtig sein, die Mikrogametocyten von *Adelea*, *Orcheobius* und ähnlichen Formen mit den Mikrogametocyten von *Eimeria*, *Cyclospora* usw. zu vergleichen. Die Bildung der Mikrogametocyten von *Adelea* ist demnach als letzte, sehr stark durch sexuelle Verhältnisse modifizierte Schizogonie aufzufassen. Ob aus der Mikrogametocyte vier oder mehr Mikrogameten sich entwickeln, halte ich für nebensächlich. Es ist dies abhängig von der Größe, welche die Mikro-

---

[1]) p. 182: „Chez les genres *Coccidium* et *Klossia* les microgamètes se forment directement à la surface d'une coccidie adulte, en un temps. Ici la formation a lieu en deux temps." (Unter *Coccidium* ist *Eimeria* und unter *Klossia* ist *Eucoccidium* zu verstehen; vgl. Lühe 1903).

[2]) p. 1084: „Les microgamètes ne se forment pas directement; il y a d'abord production de cellules mères de microgamètes ou microgamétocytes."

gametocyten erreichen, bzw. von der hiermit in Beziehung stehenden Menge der Kernsubstanz. Werden sie ungefähr so groß wie die Makrogameten, so entwickeln sie viele Mikrogameten; wachsen sie dagegen wenig oder gar nicht, so ist nach einmal wiederholter Zweiteilung des Kerns bereits der Kernteilungsprozeß beendet und infolgedessen entstehen nur vier Mikrogameten.

Befruchtungsvorgänge.

Schon während in den Mikrogametocyten die Kerteilungen vor sich gehen, beginnen auch die Makrogameten, denen sie anliegen, sich abzurunden. Doch nehmen sie nicht die Form einer Kugel an, sondern kontrahieren sich nicht weiter, als bis sie ungefähr die Form eines Rotationsellipsoids angenommen haben, dessen große Achse etwa 60 μ und dessen kleine Achse etwa 40 μ lang ist. Sie nehmen bei der Kontraktion etwas an Volumen ab. Die oben erwähnte, von den Lymphocyten herstammende Hülle wird nämlich von dem kontrahierten Makrogameten, dessen frühere Form sie bewahrt, nur zum Teil ausgefüllt, ohne daß jedoch der mittlere Teil der Hülle, in dem der kontrahierte Makrogament liegt, besonders stark aufgebauscht wird. Ich habe diesen Kontraktionsprozeß gelegentlich am lebenden Objekt beobachten können; wahrscheinlich kommt er durch Austritt von Flüssigkeit aus dem Parasiten ins umgebende Medium zustande; eine andere Erklärung kann ich wenigstens nicht finden. Eine Verkleinerung des Volumens, Kondensation, hat übrigens auch Brasil an einem Sporozoon beobachtet, und zwar (1904 A) an *Joyeuxella toxoides*, einem Sporozoon incertae sedis aus dem Darm von *Lagis koreni*.

Der Kern der kontrahierten Makrogameten liegt an einem Pol des Rotationsellipsoids dicht unter der Oberfläche. Man kann am lebenden Objekt in dem Zellkörper, der durch die eingelagerten, oben beschriebenen Granulationen dunkel erscheint, deutlich den bläschenförmigen Kern und den in ihm liegenden, ziemlich stark lichtbrechenden Binnenkörper erkennen.

Gleichzeitig mit der Loslösung der Mikrogameten von der Mikrogametocyte gehen im Makrogametenkern folgende Veränderungen vor sich: Während zuletzt das Chromatin im Kern außerhalb des Binnenkörpers in zahlreichen, staubförmigen Körnchen vorhanden war, sammelt es sich jetzt in größeren, anscheinend hohlen Körnern oder Tropfen in unmittelbarer Nähe des Binnenkörpers (Fig. 1). Allmählich gibt auch dieser sein Chromatin ab, welches ebenfalls

zur Bildung der gröberen Tröpfchen beiträgt. Ich hatte, obwohl es kaum möglich ist, sich hierüber ein sicheres Urteil zu bilden, den Eindruck, als ob hierbei eine Chromatinvermehrung stattfindet. Wenn dieser Prozeß vollendet ist, ist die Chromatinrinde vollständig von dem Binnenkörper verschwunden; dieser besteht dann nur noch aus Plastin, enthält große Vaknolen und ist häufig in zwei oder drei Teile zerfallen, die ihrerseits wieder Kugelform annehmen. Er entzieht sich häufig der Wahrnehmung, da die Chromatinkörnchen ihn dicht umgeben.

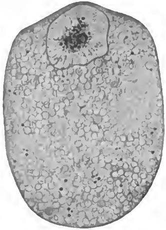


Fig. I.
Makrogamet kurz vor der Befruchtung.

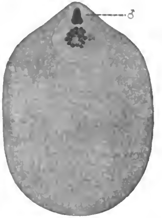


Fig. II.
Makrogamet kurz nach der Befruchtung.
♂ der eingedrungene Mikrogamet.

Auf diesem Stadium erfolgt anscheinend die Befruchtung, die ich leider am lebenden Objekt niemals verfolgen konnte. Doch habe ich auf gefärbten Präparaten wiederholt den eingedrnngenen Mikrogameten als kompakten Chromatinklumpen innerhalb des Makrogametenkerns beobachten können (Fig. II). In einem anderen Präparat sah ich, daß das männliche Chromatin aufgelockert und dem weiblichen Chromatin genähert war, und zwar lockert sich das männliche Chromatin zuerst an derjenigen Seite auf, die dem weiblichen Chromatinhaufen am nächsten liegt. Es ist anzunehmen, daß dann beide Chromatinhaufen miteinander zu einem einzigen Klumpen verschmelzen.

Diese eben befruchteten Makrogameten waren stets bereits von einer, wahrscheinlich unmittelbar nach dem Eindringen des Mikrogameten gebildeten Cystenmembran umgeben und dadnrch zur

Oocyste geworden. Von der Membran hat sich das Plasma dicht an dem Pol, an welchem der Kern liegt, etwas zurückgezogen, weshalb sie vor allem hier sichtbar wird. Genau am Pol jedoch zieht sich das Plasma zunächst nicht zurück; dadurch entsteht hier eine fast nur vom Kern gebildete Vorwölbung (Fig. 14 bh), die wie ein Befruchtungshügel aussieht und die ich auch der Kürze halber mit diesem Namen bezeichnen will, obwohl ich nicht mit Bestimmtheit entscheiden kann, ob sie wirklich als solcher dient oder ob sie nicht erst nach der Befruchtung entsteht.

Sehr große Schwierigkeiten machten die außerordentlich zahlreichen und höchst verschiedenartigen Stadien, die der Kern nach der Befruchtung bis zur Vollendung seiner ersten Zweiteilung durchläuft. Ich habe schon oben bemerkt, daß ich nur wenige Veränderungen am lebenden Objekt direkt verfolgen konnte und daher größtenteils auf Kombinationen angewiesen bin. Außerordentlich schwierig ist es leider, die in Rede stehenden Kernveränderungen am Lebenden zu studieren, da die Beobachtung aller feineren Einzelheiten durch die groben, dem Plasma eingelagerten, dicht gedrängten Zooamylumkörner verhindert wird. Solange der Befruchtungshügel vorhanden ist, liegt der Kern zum Teil dicht unter dessen Oberfläche (Fig. 14); man kann dann häufig den Binnenkörper noch erkennen. Sehr bald aber, nachdem die Cystenmembran völlig geschlossen ist, zieht der Befruchtungshügel sich von dieser zurück, und der Kern ist fast rundum von den stark lichtbrechenden Zoomylumkörnern umgeben. Die Rückbildung des Befruchtungshügels habe ich am lebenden Objekt verfolgen können. Es trennt sich dabei etwas Protoplasma von dem übrigen los und bleibt an der Cystenmembran liegen. Eine Zeitlang ist es noch durch einen Plasmafaden mit dem übrigen Plasma verbunden; bald zerreißt jedoch dieser Faden, worauf das kleine Plasmaklümpchen zerfällt und sich in der Cystenflüssigkeit auflöst. Ganz Ähnliches hat Pérez (1903) bei *Adelea mesnili* gefunden.

Außerdem konnte ich noch eine Veränderung am lebenden Objekt beobachten. Ich konnte (Fig. 15) sehen, daß ein langgestreckter, spindelförmiger Kern sich gegen einen Pol der Oocyste zusammenzog, sich dort zunächst abrundete und schließlich dem Pol flach anlagerte; eine Befruchtung erfolgte während dieser Vorgänge nicht. Ich werde auf diese Beobachtung noch zurückkommen und will vorerst nur betonen, daß sie beweist, daß nach der Befruchtung, wie bei allen genauer untersuchten Coccidien, der Kern die Form einer

Spindel annimmt, welche jedoch keine Teilungsspindel ist, sondern sich vor der ersten Kernteilung wieder zurückbildet.

Wie gesagt, war ich zur Erschließung der Reihenfolge, in der die einzelnen in gefärbten Präparaten gefundenen Kernstadien aufeinander folgen, größtenteils auf Kombinationen angewiesen. Ich erachte es in hohem Maße wahrscheinlich, daß die Vorgänge in folgender Weise verlaufen:

Das aufgelockerte männliche Chromatin vereinigt sich mit dem weiblichen Chromatin zu einem ziemlich dichten wabigen Chromatingerüst, das die Reste des Binnenkörpers umgibt, so daß letztere sich der Wahrnehmung völlig entziehen.

Dann beginnt der Kern (Fig. III) sich in die Länge zu strecken, bis er die Gestalt einer die ganze Oocyste durchziehenden Spindel angenommen hat; gleichzeitig entstehen chromatische Fäden, welche, von dem wabigen Chromatingerüst ausgehend, das am Befruchtungspol liegen bleibt, sich durch den Hohlraum des Kerns erstrecken, indem sie ihn entweder in schräger Richtung oder in seiner ganzen Längsrichtung durchziehen und sich mit ihrem Ende an die Kernmembran ansetzen. Am auffälligsten sind die in der Längsrichtung des Kerns verlaufenden Fäden; meist sind es etwa drei, welche ungefähr in der Achse des Kernes dicht nebeneinander herziehen und durch meist schräg verlaufende Verbindungsfäden, die ebenfalls chromatischer Natur sind, miteinander anastomosieren.



Fig. III.
Entstehung der Befruchtungsspindel in der Oocyste.



Fig. IV.
Oocyste mit Befruchtungsspindel.

Ich habe die zuletzt beschriebenen und in Fig. IV u. 41 dargestellten Kernstadien sehr häufig gefunden und schließe daraus, daß der Kern lange darauf verharrt. Ich muß diese merkwürdige Kernform natürlicherweise mit den Befruchtungsspindeln der übrigen genauer untersuchten Coccidien vergleichen, obwohl sie sich von diesen erheblich unterscheidet. Daß ein großer Teil des Chromatins an einem Pol der Spindel angesammelt bleibt, ist bisher bei keinem Coccidium beobachtet worden. Doch ist eine die Spindel von einem bis zum anderen Pol durchziehende, aus Chromatinfäden bestehende Achse, welche in der Mitte „un spirème de chromatine assez condensée" trägt, durch Siedlecki (1898) von *Eucoccidium octopianum* bekannt geworden. Dagegen ist kaum ein Vergleich möglich zwischen der Befruchtnngsspindel des *Orcheobius herpobdellae* und der der *Eimeria schubergi*, in welch letzterer das Chromatin so außerordentlich regelmäßig im ganzen Kern verteilt ist. Zwischen den Befruchtungsspindeln von *Eimeria schubergi* und *Eucoccidium eberthi* steht übrigens in der Mitte die von *Adelea mesnili* (nach Pérez 1903), in welcher das Chromatin, aus einzelnen Fasern bestehend, auch die Achse der Zelle einnimmt, wie bei *Eucoccidium eberthi*, aber in einer Spindel von etwas größerem Querschnitt angeordnet ist und, wie bei *Eimeria schubergi*, den Kern ganz ausfüllt.

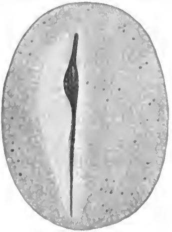


Fig. V.
Oocyste mit Befruchtungsspindel; etwas späteres Stadium als Fig. IV.

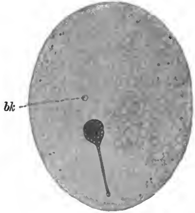


Fig. VI.
Oocyste mit in Rückbildung begriffener Befruchtungsspindel. *bk* Binnenkörper.

Die Rückbildung dieser Spindel scheint in höchst eigenartiger Weise vor sich zu gehen. Die axial verlaufenden Fäden verkürzen

und verdicken sich, ihr Ende bleibt jedoch an dem dem Befruchtungspol entgegengesetzten Ende der Spindel liegen. Die Fäden reißen aber nicht etwa durch, sondern das Chromatingerüst, von dem sie ausstrahlen, rückt im Zusammenhang mit ihrer Verkürzung von dem Befruchtungspol weg und mehr in die Mitte des Kernes. Hierbei werden die Reste des Binnenkörpers, die bisher von dem Chromatin umgeben waren, als kleine, mitunter Vakuolen enthaltende und mit Chromatinfarbstoffen durchaus unfärbbare Kügelchen frei (Fig. VI, VII, 43, 44). Das Chromatingerüst zieht die schräg durch den Kern verlaufenden Chromatinfäden ein und nimmt allmählich eine deutlich grobwabige Struktur an. Aus den axialen Fäden ist ein Fortsatz des nunmehr vorhandenen grobwabigen Chromatinklumpens entstanden; dieser Fortsatz nimmt ebenfalls einen deutlich wabigen Bau an, und zwar besteht er aus einer einzigen Wabenreihe (Fig. VI, 43). Das Chromatin hat jetzt die Form einer Keule. Allmählich verkürzt sich der Kern, indem er sich gegen den Befruchtungspol zusammenzieht, während gleichzeitig der Fortsatz der Chromatinkeule eingezogen wird (Fig. VII). Die Kernmembran bildet sich während dieser letzten Vorgänge zurück (Fig. VIII).

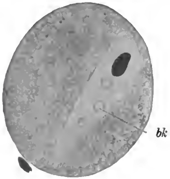


Fig. VII.
Die Rückbildung der Befruchtungsspindel schreitet weiter fort.
bk Binnenkörper.



Fig. VIII.
Oocyste nach Rückbildung der Befruchtungsspindel.

Die Reste des Binnenkörpers, welche bis jetzt sichtbar waren, verschwinden: es ist nicht zu entscheiden, ob sie im Kernsaft sich auflösen oder, nachdem der Kern membranlos geworden ist, vom Protoplasma aufgenommen werden. Daß der Binnenkörper (oder

Teile desselben) vor oder nach der Befruchtung zugrunde geht, ist von verschiedenen Coccidien nachgewiesen worden. Bei *Eucoccidium eberthi* gehen (nach LABBÉ 1896) Teile des Binnenkörpers innerhalb des Kernes zugrunde; dagegen wird er nach SIEDLECKI (1898) bei diesem Coccidium aus dem Kern ausgestoßen und im Plasma aufgelöst. Bei *Eimeria schubergi* (SCHAUDINN 1900) zerfällt er vor der Befruchtung, die Zerfallsprodukte werden ausgestoßen und sollen zur Anlockung der Mikrogameten dienen. Es würde zu weit führen, das Schicksal des Binnenkörpers bei allen näher bekannten Coccidien hier zu besprechen. Es sei nur erwähnt, daß auch bei einer Gregarine, bei *Schaudinella henleae*, nach den interessanten Untersuchungen NUSSBAUM's (1903) der Binnenkörper bei der Befruchtung zugrunde geht. Im höchsten Grade merkwürdig und von den genannten Coccidien abweichend ist es jedoch, daß bei dieser Form das weibliche Chromatin in einem Klumpen aus dem Kern austritt, um sich außerhalb des Kernbläschens mit dem Chromatin des eingedrungenen Mikrogameten zu vereinigen, während der in dem Kernbläschen zurückgebliebene Binnenkörper, der ähnlich wie bei *Orcheobius herpobdellae* vor der Befruchtung sein ganzes Chromatin abgegeben hat, degeneriert, und zwar mitsamt dem ganzen Kernbläschen.

Daß in den in Fig. VI, VII, 43, 44 dargestellten Stadien der Binnenkörper sich leicht beobachten läßt, während er in Fig. III—V, 41, 42 sich der Wahrnehmung entzieht, veranlaßte mich zuerst, im letzteren Falle ihn für bereits aufgelöst zu halten und demgemäß die gesamten Stadien der Befruchtungsspindel in umgekehrter Reihenfolge anzuordnen, so daß die Figuren so aufeinander folgen würden: Fig. I; II; VII, 44; VI, 43; V, 42; IV, 41. Danach würde nach der Befruchtung das männliche und weibliche Chromatin zu einem wabig gebauten kompakten Klumpen verschmelzen (Fig. VII, 44); während der Kern sich in die Länge streckt, würde der Chromatinklumpen einen Fortsatz aussenden (Fig. VI, 43), dann würde das ganze Chromatin sich auflockern, weitere Fortsätze aussenden und so das Stadium der sogenannten Befruchtungsspindel erreichen. Später würde der Kern unter Auflösung der Membran sich einfach kontrahieren.

Ich muß auch jetzt noch die Möglichkeit offen lassen, daß diese frühere Meinung die richtige ist, doch hat die oben gegebene Darstellung mehr Wahrscheinlichkeit für sich. Es folgt nämlich bei allen näher bekannt gewordenen Coccidien die Befruchtungsspindel, in der das Chromatin aufgelockert ist, unmittelbar der Befruchtung, und es ist daher unwahrscheinlich, daß bei *Orcheobius* jenes merk-

würdige Keulenstadium zwischen Befruchtung und Befruchtungsspindel sich einschieben soll.

Sporogonie.

Nach völliger Rückbildung der Befruchtungsspindel besteht der am Befruchtungspol liegende Kern aus einem ziemlich dichten alveolären Chromatinhaufen, der von einem hellen Hof umgeben ist. Eine Kernmembran ist nicht vorhanden (Fig. VIII).

Es erfolgt nun sehr bald die die Sporogonie einleitende erste Kernteilung, deren Verlauf äußerst beachtenswert ist. Zunächst legt sich der Kern, wie auch am lebenden Objekt (s. o. und Fig. 15) beobachtet werden konnte, der Zelloberfläche am Befruchtungspol ganz dicht und ziemlich flach an. Dann bilden sich Spindelfasern aus, der alveoläre Chromatinklumpen zerfällt in eine große Zahl kleiner Chromatintröpfchen, die auf den Spindelfasern anscheinend entlanggleiten; schließlich bilden sich, was bisher noch an keinem Coccidium einwandfrei beobachtet werden konnte, regelrechte Chromosomen aus, die jedenfalls aus den Chromatintröpfchen durch Aneinanderreihung entstehen.

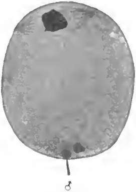


Fig. IX.
Oocyste, deren Kern beginnt, sich zu teilen. ♂ Reste von Mikrogameten.

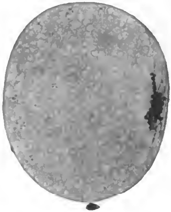


Fig. X.
Etwas späteres Stadium als Fig. IX.

Ihre Zahl ist nicht völlig konstant, doch schwankt sie im allgemeinen nur zwischen 10 und 12. Bei günstiger Färbung mit Delafield'schem Hämatoxylin erkennt man (Fig. XI—XIII), daß die Chromosomen wabig gebaut sind, und zwar bestehen sie aus einer Reihe von Waben; ihre Struktur stimmt demnach in merkwürdiger Weise

mit der Struktur der Bakterien überein, wie sie BÜTSCHLI (1890) beschrieben hat. Der Kern streckt sich dann spindelförmig in die Länge, und zwar ist die so entstandene Spindel eine Teilungsspindel, wie sich gleich zeigen wird. Sie ist von der oben beschriebenen Befruchtungsspindel leicht zu unterscheiden einerseits durch den Mangel einer erkennbaren Kernmembran, andererseits durch ihre Lage in der Oocyste. Während nämlich die Befruchtungsspindel den ganzen Zellkörper ungefähr in der Richtung von Pol zu Pol durchsetzt, bleibt die Teilungsspindel der Zelloberfläche ziemlich dicht angelagert und erreicht auch keineswegs die Länge der ersteren, sondern bleibt ziemlich kurz (Fig. IX—XIV, 45, 46).

Die Chromosomen, die bisher im Centrum des Kernes lagen, rücken nun ein klein wenig gegen die Pole der Spindel auseinander, und es werden Spindelfasern sichtbar. Eine Längsspaltung der Chromosomen erfolgt während der ganzen Teilung nicht, auch rücken die Chromosomen nicht alle bis in die unmittelbare Nähe eines der beiden Pole, sondern verteilen sich auf der ganzen Spindellänge, wobei je ein Ende von den Spindelfasern abgewandt ist (Fig. XI, XII).



Fig. XI.
Erste Kernteilung in der Sporocyste.
Deutliche Chromosomen sind vorhanden.



Fig. XII.
Wie Fig. XI.

Dann erfolgt etwas höchst Eigenartiges: Die Chromosomen nämlich legen sich allmählich den Spindelfasern der Länge nach an und zerfallen während dieses Vorganges in eine Anzahl kleiner Chromatintröpfchen, welche auf den Spindelfasern hinwandern. Man kann mitunter Chromosomen sehen, deren ursprünglich den Spindelfasern genähertes Ende bereits in einzelne Tropfen aufgelöst ist, während sie mit ihrem anderen Ende den Spindelfasern noch nicht einmal

völlig angelagert sind. Man glaubt dann, ganz kurze, mit einem Ende den Spindelfasern aufsitzende Chromosomen vor sich zu haben. Schließlich verteilt sich das Chromatin der Chromosomen ganz auf den Spindelfasern. Es scheint, daß die einzelnen Tröpfchen den Alveolen der Chromosomen entsprechen; man sieht nämlich manchmal (vgl. Fig. XIII, XIV, 45) zwei bis drei Chromatintröpfchen, welche noch aneinander hängen und dann als ein nur noch aus zwei bis

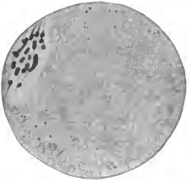


Fig. XIII.
Oocyste: späteres Stadium der ersten Kernteilung.



Fig. XIV.
Wie Fig. XIII.

drei Alveolen bestehender Chromosomenrest erscheinen. Die Spindelfasern selbst, die vorher bei Behandlung mit Kernfarbstoffen ungefärbt blieben, färben sich auf diesen späteren Stadien der Teilung ziemlich stark sowohl mit Boraxkarmin als auch mit Delafield'schem Hämatoxylin; es scheint demnach, daß das Chromatin sich noch feiner als in Gestalt der deutlich sichtbaren Tröpfchen auf ihnen verteilt. Allmählich gleitet nun das Chromatin auf den Spindelfasern gegen beide Pole, und der Kern wird in der Mitte unfärbbar (Fig. 46); an beiden Enden des Kernes dagegen sind die Spindelfasern stark mit Chromatin beladen, und sie erwecken mitunter geradezu den Eindruck, als lägen dort zwei Bündel von Chromosomen, die an den Polen zusammenhängen. Es erfolgt dann eine völlige Trennung der beiden Tochterkerne, welche die weiter unten zu beschreibende Gestalt der ruhenden Kerne annehmen.

Da die Kernteilungen bei Coccidien meist viel einfacher verlaufen, als ich hier geschildert habe, und da der Verlauf der späteren Kernteilungen in der Oocyste von *Orcheobius herpobdellae* ein wesentlich einfacherer ist, so hielt ich anfangs die zuletzt beschriebenen,

in Fig. IX—XIV, 45 abgebildeten Kernformen für Stadien der Befruchtungsspindel. Aber auch in dieser sind ja regelrechte Chromosomen bisher niemals beobachtet worden. — Nun wurde schon oben erwähnt, daß die Spindeln, welche Spindelfasern und Chromosomen enthalten, stets erheblich kürzer sind als die ausgebildeten Befruchtungsspindeln und sich außerdem der Oberfläche der Zelle dicht anschmiegen. Es müßten also diese Stadien entweder bei der Entstehung oder bei der Rückbildung der Befruchtungsspindel durchlaufen werden. Ersteres erscheint mir völlig ausgeschlossen, da die oben als Teilungsspindel beschriebene Spindel keine sichtbare Kernmembran besitzt, während eine solche bei der ausgebildeten Befruchtungsspindel noch deutlich erkennbar ist. Die Rückbildung der Befruchtungsspindel dagegen konnte ich am lebenden Objekt beobachten, wobei sich feststellen ließ, daß sie sich einfach gegen den Pol zusammenzieht, ohne sich irgendwie zu drehen. Da die Achse der Teilungsspindel eine ganz andere Richtung hat (s. o.), so können beide nicht unmittelbar zusammengehören.

Nach Beendigung der ersten Kernteilung liegen die beiden Teilkerne etwa um einen drittel Umfang der Oocyste voneinander entfernt. Die Spindelfasern sind völlig verschwunden und das Chromatin ordnet sich (vgl. Fig. 47) in jedem Kern in einer aus feinen Kügelchen zusammengesetzten Platte an, die dicht unter der Oberfläche liegt. In einem in radialer Richtung durch die Oocyste geführten Schnitt erscheint daher solch ein ruhender Kern als ein ziemlich schmaler, der Oberfläche paralleler, stark tingierter Streifen. Ganz ähnlich sind auch die ruhenden Kerne gebaut, wenn sie sich wiederholt geteilt haben, wie zur Vermeidung von Wiederholungen schon hier bemerkt sei.

Man könnte erwarten, nach Analogie mit den Vorgängen bei der Furchung der Metazoeneier und entsprechend den Vorgängen bei der von SCHAUDINN (1900) beobachteten Sporogonie von *Eimeria schubergi*, daß die zweite Kernteilung so erfolgt, daß die Achsen beider Spindeln sich unter einem rechten Winkel kreuzen; doch ist dies keineswegs stets der Fall, mitunter sind sogar beide Achsen einander ziemlich parallel.

Die zweite Kernteilung verläuft bedeutend einfacher als die erste. Es werden keine Chromosomen gebildet, sondern die Chromatinplatten strecken sich in die Länge (Fig. 48 a), und darauf ordnen sich die Chromatinkörnchen in mehreren Zügen an, die von einem Ende des in die Länge gestreckten Kerns zum anderen laufen. Dieser besitzt jetzt die Form einer Spindel, die jedoch keinen kreis-

förmigen Querschnitt hat, sondern der Oberfläche der Oocyste flach anliegt. Beide Pole der Spindel liegen unmittelbar unter der Zelloberfläche; sie rücken ein Stück auseinander und die Chromatinzüge reißen einer nach dem anderen in der Mitte durch. Wie bei der ersten Kernteilung (vgl. S. 410) gewinnt man auch bei der zweiten, nachdem die Chromatinzüge zerrissen sind, häufig den Eindruck, als habe man regelrechte Chromosomen vor sich, die von beiden Polen aus nach dem Äquator der Kernspindel ausstrahlen (Fig. 48 b). Zwischen den chromosomenartigen Figuren beider Teilkerne kann man dann auch häufig noch Spindelfasern erkennen. — Wenn der Sporont vier Kerne enthält, erfolgen die weiteren Kernteilungen nicht mehr genau gleichzeitig; auch währen die Ruhestadien nie sehr lange, so daß man ein Stadium mit 8 ruhenden Kernen selten, mit 16 ruhenden Kernen wohl niemals mehr beobachten kann.

Die Kernteilungen, die auf das Vierkernstadium folgen, sind gegen die zuletzt beschriebene Art wiederum nicht unerheblich vereinfacht. Der Kern streckt sich in die Länge und wird spindelförmig, ohne daß jedoch Spindelfasern auftreten. Es bilden sich zwar einzelne getrennte Chromatinzüge aus, doch sind diese sehr unregelmäßig und können kaum noch für Chromosomen gehalten werden. Die Chromatinzüge zerreißen dann, und die beiden Pole der Spindel rücken noch ein Stück auseinander, ohne daß jedoch auch jetzt Spindelfasern auftreten. Dann sondern sich beide Teilkerne völlig voneinander und kehren zum Ruhestadium zurück; die ruhenden Kerne (Fig. 49) sind von denen des Zweikernstadiums nur durch ihre geringere Größe unterschieden.

Diese späteren Kernteilungen erinnern außerordentlich an die letzten Kernteilungen in der Sporogonie von *Eucoccidium eberthi*, die Siedlecki (1898) beschrieben und in Figur 23, 24 abgebildet hat, nur habe ich keinen Zwischenkörper beobachten können; außerdem ist der helle Hof, den man auch bei *Orcheobius* um die Kerne erkennen kann, nicht so scharf gegen das Plasma abgegrenzt, wie ihn Siedlecki von *Eucoccidium eberthi* zeichnet.

Wenn die Kernteilung sich so oft wiederholt hat, daß gegen 16 Kerne in der Oocyste vorhanden sind, werden die weiteren Kernteilungen noch etwas einfacher. Das Chromatin ordnet sich nur in der Nähe des Äquators der Spindel in etwa zwei bis vier parallelen Zügen an, in der Gegend der Pole bildet es einen unregelmäßigen Haufen (Fig. 50). Bei den letzten Kernteilungen endlich, die vor der Bildung der Sporoblasten stattfinden, unterbleibt die spindelartige Anordnung des Chromatins vollständig; der Kern nimmt ein-

fach (Fig. 51) zunächst Semmelform, dann Hantelform an, darauf schnürt er sich vollständig durch; es handelt sich also hier um die einfachste Form direkter Kernteilung.

Die Kerne bleiben während aller dieser Vorgänge stets ganz dicht unter der Oberfläche liegen. Sie sind nur bedeckt von einer ganz dünnen Plasmaschicht, in der keine Zooamylumkörner liegen. Zum Schluß sind etwa 50—60 Kerne vorhanden. Da ihre Zahl anscheinend niemals eine Potenz von zwei ist, so folgt, daß nicht alle Kerne der gleichen Generation angehören, sondern daß nach der fünften Teilung einige im Ruhezustand verharren, die meisten dagegen noch einmal sich teilen. Aus der Schilderung der verschiedenen bei der Sporogonie vorkommenden Kernteilungen dürfte man ersehen haben, daß die erste Kernteilung gewisse nicht unbedeutende Ähnlichkeiten mit der typischen Karyokinese aufweist, daß die späteren dagegen, indem sie sich allmählich mehr und mehr vereinfachen, verschiedene Übergänge bilden bis zur ganz einfachen direkten Kernteilung.

Es dürfte nun nicht unwahrscheinlich sein, daß diese einfachen späteren Kernteilungen nicht als sehr ursprüngliche Vorgänge aufzufassen sind, sondern daß sie durch Rückbildung aus solchen Kernteilungen entstanden sind, welche der ersten nach der Befruchtung gleichen. Die rasche Aufeinanderfolge der Teilungen und die Kleinheit der Kerne liefert vielleicht eine Erklärung für diese merkwürdige Erscheinung.

Es taucht nun die Frage auf, ob die erste Kernteilung vielleicht eine primitive Karyokinese ist oder ob auch sie aufgefaßt werden muß als durch Rückbildung aus einer typischen Caryokinese entstanden. Zur Entscheidung dieser Frage mag folgende Überlegung dienen:

In der typischen Karyokinese dienen die Chromosomen, die sich der Länge nach spalten, dazu, eine möglichst gleichmäßige Verteilung des Chromatins zu verbürgen. Bei *Orcheobius herpobdellae* kann dieser Zweck unmöglich erfüllt werden, da erstens keine Längsspaltung der Chromosomen stattfindet und da zweitens auch eine der Zahl nach gleichmäßige Verteilung der Chromosomen auf beide Tochterkerne nicht geschieht; die Chromosomen bilden sich ja zurück, ehe die Teilung erfolgt. Eine andere Bedeutung, welche die Chromosomen haben sollten, ist aber keineswegs zu erkennen. Dieses merkwürdige Verhalten der Chromosomen wird verständlich durch die Annahme, daß die in Rede stehende Kernteilung nicht eine primitive,

sondern eine rückgebildete Karyokinese ist, daß also die Chromosomen hier als rudimentäre Organe der Kernteilnng aufzufassen sind.

Ans der umfangreichen Literatnr über Coccidien ist mir nichts bekannt geworden, was man mit dieser merkwürdigen ersten Kernteilung in der Sporogonie von *Orcheobius* vergleichen könnte. Dagegen mnß hingewiesen werden auf die erste Kernteilung in den Sporen von *Clepsidrina ovata*. Nach Schnitzler's (1905) Untersuchungen über diese Gregarine bildet sich in einer regelrechten Teilungsspindel eine aus kngelförmigen Chromosomen bestehende Äqnatorialplatte, und die Chromosomen rücken, indem sie sich fadenförmig verlängern, gegen die beiden Pole; diese Umwandlung der kugelförmigen in dünne, fadenförmige Chromosomen dürfte wohl im wesentlichen die gleiche Erscheinung sein wie das Auseinanderfließen der Chromosomen von *Orcheobius* auf den Spindelfasern.

Wenn in der Oocyste von *Orcheobius* etwa 50—60 Kerne vorhanden sind, beginnt der Zerfall des Sporonten in die einzelnen Sporoblasten. Zwischen je zwei Kernen, welche in der Regel aus einer Kernteilung hervorgegangen sein dürften, beginnt das Protoplasma, sich ein wenig buckelartig hervorzuwölben, häufig noch bevor die zwei Kerne völlig voneinander getrennt sind. Dann beginnt auf der Oberfläche ein System von Furchen sich auszubilden, durch welche Bezirke abgesondert werden, die je ein Paar von Kernen enthalten.

In jedem dieser Bezirke wölbt sich das Plasma pyramidenförmig ein wenig vor (Fig. 16). Es erinnert das ein wenig an ähnliche Dinge, die von anderen Coccidien, z. B. von der *Eimeria* der Maus durch Schuberg (1895) und von *Eimeria stiedae* durch Metzner (1902) beschrieben wurden. Doch bilden sich bei diesen Formen die Pyramiden erst, nachdem die Sporoblasten völlig voneinander getrennt sind, während sie bei *Orcheobius* aufzutreten scheinen, bevor die simultane Zellteilung stattgefunden hat; auch werden bei diesem nicht, wie bei den genannten Formen, irgend welche Körperchen von den Pyramidenspitzen abgeschnürt oder ausgestoßen. Die Pyramiden bilden sich sehr bald wieder zurück, und die Furchen dringen dann so tief in das Innere der Sporonten ein (Fig. 52, 53), bis sie sämtlich im Centrum zusammenstoßen. Dadurch zerfällt der Sporont in 25—30 zweikernige Zellen, welche etwa die Gestalt von Kegeln haben mit abgestumpfter Spitze und ausgebauchter Grundfläche (Fig. 53). Zunächst hängen diese Zellen mit den Kegelspitzen im Mittelpunkt der Oocyste noch zusammen, bald aber trennen sie sich ohne Bildung eines Restkörpers völlig voneinander. Die zwei Kerne

liegen nahe dem distalen Ende der Sporoblasten dicht unter der Oberfläche.

Eine ähnliche Form und Anordnung zeigen die in Bildung begriffenen Sporoblasten von *Hyalosphaera gregarinicola* nach Dogiel (1906); auch hier hängen die langgestreckten Sporoblasten mit ihrem kernlosen Ende in der Mitte der Oocyste zusammen; bei ihrer Trennung bildet sich jedoch — im Gegensatz zu *Orcheobius* — ein Restkörper. Während ferner bei *Hyalosphaera* die Sporoblasten ihre langgestreckte Form dauernd — auch als Sporocysten — beibehalten, verharren sie bei *Orcheobius* nur kurze Zeit in diesem Zustand (ich habe ihn nur in wenigen Fällen beobachtet) und kontrahieren sich dann, wobei sie zunächst eiförmig (Fig. 54) und dann kugelförmig (Fig. 18', 55) werden. Wenn sie die letztere Gestalt besitzen, scheiden sie eine ziemlich dicke und fast undurchlässige Hülle ab und verwandeln sich damit in Sporocysten (Sporen), welche je zwei Kerne enthalten.

Daß von vornherein in den jungen Sporoblasten zwei Kerne vorhanden sind, ist meines Wissens erst bei einem Coccidium, und zwar bei *Isospora lieberkühni* Labbé aus der Niere von *Rana esculenta* durch Laveran und Mesnil (1902 A) beobachtet worden. Bei allen übrigen näher bekannten Coccidien zerfällt der Sporont in so viele Sporoblasten, als Kerne vorhanden sind.

Wegen der oben erwähnten schweren Durchdringbarkeit der Sporocystenwand, welche die Färbung wesentlich erschwert, wurden die Kerne nur an Schnitten studiert. Daß das Gemisch von Eisessig und absolutem Alkohol, welches zum Konservieren benutzt wurde, gut durch die Sporocystenmembran durchdringt, ergibt sich aus der Tatsache, daß auf den Schnitten der Inhalt der Sporocysten sich in der Regel als gut konserviert erwies. Bei anderen Coccidien ist übrigens die Oocystenmembran gegen Farbstoffe undurchlässig. So gelang es Metzner (1903) nicht, die Oocysten von *Eimeria stiedae* zu färben, und Sergent (1902) war ebensowenig erfolgreich bei *Isospora mesnili*.

Auch in den Sporocysten liegen die Kerne unmittelbar unter der Oberfläche, nur von einer dünnen Plasmaschicht bedeckt. Sie bilden, ähnlich wie der ungeteilte Kern der Mikrogametocyte kurz vor der Teilung, eine der Oberfläche ziemlich dicht anliegende, infolgedessen etwas gebogene Chromatinplatte (Fig. 56). Eine Kernmembran und ein Hohlraum im Kern sind nicht vorhanden. Erstere hat sich ja schon vor der ersten Kernteilung in der Oocyste rückgebildet und ist seitdem nicht wieder aufgetreten. — Beide Kerne

nehmen dann eine etwas zackige Form an und teilen sich darauf durch einfache Durchschnürung auf amitotischem Wege in der in Fig. 58, 59 dargestellten Weise. Die Richtungen, in denen die Kernteilungen erfolgen, sind in keiner Weise voneinander abhängig. Die vier Kerne, die jetzt vorhanden sind, ordnen sich so an, daß sie ungefähr in den vier Ecken eines der Sporocyste eingeschriebenen Tetraeders liegen. Ihr Chromatin besteht aus einer ziemlich geringen Zahl ansehnlicher runder Körnchen. Diese werden vorübergehend etwas länglich und ordnen sich sternförmig an (Fig. 60), bald jedoch kehrt der Kern wieder zu der gewöhnlichen Form zurück. Eine Anzahl rundliche Chromatinkörnchen sind durch ein netzigwabiges Gerüst miteinander verbunden (Fig. 61). In der Nähe der Kerne sammelt sich Protoplasma an, das von Zooamylumkörnern frei ist. Schließlich heben sich vier langgestreckte Zonen körnerfreien Plasmas, deren jede einen Kern enthält, vom übrigen Plasma ab; sie trennen sich dann vollständig los, und es bilden sich auf diese Weise 4 Sporozoiten, die einem sehr ansehnlichen Restkörper anliegen. Die Tatsache, daß die Zooamylumkörner im Restkörper verbleiben, läßt es mir (wie auch Bütschli 1880—82 S. 517 bei Gregarinen) zweifelhaft erscheinen, ob sie bei *Orcheobius herpobdellae* als Reservematerialien dienen: es wäre dies nur möglich, wenn man annimmt, daß die Sporozoiten, nachdem sie vom Restkörper sich losgelöst haben, auf dessen Kosten wachsen. Ich habe jedoch dies nicht nachweisen können; vielmehr war stets ein ansehnlicher Restkörper (Fig. 20) in der Sporocyste vorhanden; auch wenn sein Plasma abgestorben und zum Teil zerfallen war, lagen doch zahlreiche Zooamylumkörner zwischen den Sporozoiten. Diese lagern sich bald in folgender Weise: Je zwei legen sich mit ihren Achsen parallel zueinander und drängen sich dicht zusammen. Die einzelnen Sporozoiten sind etwas gekrümmt, so daß sie sich der Oberfläche der Sporocyste dicht anlagern. Ihre Länge beträgt etwas über den dritten Teil des Sporocysten-Umfangs. Die Sporozoiten jedes Paares sind denen des anderen mit je einem ihrer Enden stark genähert, mit dem anderen Ende dagegen nicht.

Nicht selten findet man übrigens mehr als 4 Sporozoiten, recht häufig z. B. 6, in einer Sporocyste, was unten näher erörtert werden soll; dies mag wohl davon herrühren, daß die Furchenbildung mitunter etwas unregelmäßig erfolgt, so daß gelegentlich mehr als zwei Kerne in einen Sporoblasten gelangen.

Der feinere Bau der Sporozoiten läßt sich auch am lebenden Objekt recht gut studieren. Wenn man ein wenig auf das Deck-

glas eines nicht zu dicken Präparats drückt, das reife Oocysten entweder in physiologischer Kochsalzlösung oder in Eiweißlösung enthält, dann werden zunächst die Sporocysten aus ihrer natürlichen Lage gedrängt; bei stärkerem Druck platzt die Hülle sowohl der Oocysten als auch der Sporocysten, und die Sporozoiten (Fig. 21) werden frei.

Man erkennt dann, daß sie die wurmförmige Gestalt der meisten Sporozoiten besitzen und an einem Ende, dem Hinterende, mehr abgerundet, am anderen Ende, dem Vorderende, ziemlich spitz sind. Das spitze Ende ist stärker lichtbrechend als das übrige Plasma. Oft ist am lebenden Objekt der in der Mitte liegende Kern deutlich zu erkennen (Fig. 21 a). Das Plasma ist deutlich wabig gebaut, was auch am lebenden Sporozoiten außerordentlich leicht zu beobachten ist; es enthält eine geringe Anzahl stark lichtbrechender Körnchen. Auf gefärbten Präparaten sieht man, daß im Kern eine Anzahl von Chromatinkörnern vorhanden ist, während ein Binnenkörper nicht aufgefunden werden konnte. Letzterer bildet sich wahrscheinlich erst nach dem Ausschlüpfen der jungen Sporozoiten, wie SCHAUDINN (1900) bei *Eimeria schubergi* nachgewiesen hat.

Die Sporozoiten bewegen sich äußerst lebhaft in den Präparaten, und zwar waren die Bewegungen, die ich beobachtete, durchweg Krümmungen (Fig. 21); diese erfolgten nicht immer in einer Ebene, sondern die Sporozoiten krümmten sich mit ihren Enden häufig aus der Ebene heraus, wie das schon SCHUBERG (1895) vom Coccidium der Maus und SCHAUDINN (1900) von den *Lithobius*-Coccidien beschrieben hat.

Die von SCHAUDINN und SIEDLECKI (1897) bei *Lithobius*-Coccidien nachgewiesenen Kontraktionen und Vorwärtsbewegungen zu beobachten, gelang mir nicht. Wenn übrigens ein Sporozoit von *Orcheobius herpobdellae* sich krümmt, etwa bis er die Form eines C angenommen hat, so wird gleichzeitig seine Gestalt gedrungener; sein spitzes Ende rundet sich ab, so daß es von dem anderen kaum noch zu unterscheiden ist. Wenn er sich dann wieder gerade biegt, wird er gleichzeitig länger und schmäler; das Ende, das vorher etwas zugespitzt war, nimmt wieder diese Form an. Eine Streifung, wie sie nach SCHAUDINN und SIEDLECKI (1897) bei *Adelea ovata* und nach LÉGER (1898 A) bei *Echinospora* während der Bewegung auftritt, wurde bei *Orcheobius herpobdellae* nicht wahrgenommen.

Wie schon oben erwähnt, ließ sich nicht feststellen, wie die reifen Oocysten aus den Wirtstieren herausgelangen. In den Vasa

deferentia wnrden die Parasiten trotz wiederholten Nachsnchens niemals gefnnden; daher muß man vermuten, daß sie durch Absterben und Verwesen der infizierten Herpobdellen frei werden. Dafür spricht auch der folgende Versuch: Ich schnitt in den ersten Augnsttagen eine mit reifen Oocysten stark infizierte *Herpobdella* in kleine Stücke und brachte die Stückchen in ein mit Wasser gefülltes, zugedecktes Schälchen. Als nach einigen Tagen die Fäulnis bereits stark fortgeschritten war, ließ sich feststellen, daß die Sporocysten in keiner Weise verändert waren, daß die Verwesung des Wirts den Sporocysten keinen Schaden gebracht hatte.

Abweichungen von der normalen Entwicklung.

Hiermit ist die Schildernng der normalen Entwicklung von *Orcheobius herpobdellae* innerhalb des Wirtstieres beendigt. Ich möchte noch einiges hinzufügen über Abweichungen vom normalen Gange der Entwicklung und über Degenerationserscheinnngen.

Bei der Schizogonie wurden solche nicht beobachtet, wohl aber bei der Sporogonie, und zwar oft in recht erheblichem Maße. Besonders Ende Juli und Anfang August, wenn in den normalen Oocysten die Sporogonie meist beendet ist, findet man zahlreiche Oocysten, die sich in abnormer Weise entwickelt haben, daneben jedoch sehr wenige normale Oocysten, deren Entwicklung noch nicht vollendet ist.

Sehr einfache Fälle abnormer Entwicklung sind es, wenn die Kerne in der Oocyste nach den Teilungen nicht genügend weit auseinander rücken, so daß sie alle in einer Hälfte oder einem noch geringeren Teil der Zelle angesammelt sind. In solchen Fällen ist auch der Modus der Kernteilung sehr stark vereinfacht nnd stimmt ziemlich genau mit der oben beschriebenen Art der letzten Kernteilung vor der Sporoblastenbildung überein. Was aus solchen Oocysten weiterhin wird, konnte leider nicht festgestellt werden.

Nicht selten kommt es auch vor, daß nach einer Kernteilnng die zwei Tochterkerne sich bereits von nenem zn teilen beginnen, ehe sie völlig voneinander getrennt sind. Auch dann sind die Kernteilnngen stets stark vereinfacht und als direkte Kernteilungen zu betrachten. Ein Extrem dieser Erscheinung ist in Fig. 62 abgebildet. Hier haben sich von dem nrsprünglichen Kern der Oocyste einige kleine Chromatinhaufen losgelöst: der Rest des Kernes hat begonnen, sich amitotisch zu teilen. Es ist aber zu gar keiner

Teilung gekommen, und an den Enden des in die Länge gestreckten Kerns strebt das Chromatin wieder nach verschiedenen Richtungen auseinander. Es scheint mir, daß solche abnormen Kernteilungen uns zeigen, auf welchem Wege eventuell eine simultane Kernteilung aus einer wiederholten Zweiteilung entstanden sein kann. Ich will natürlich nicht behaupten, daß die multiple Kernteilung, wo sie bei Coccidien normalerweise auftritt, aus wiederholter Zweiteilung hervorgegangen sein müsse, möchte aber auf die Möglichkeit hinweisen.

Weitere Abweichungen von der normalen Entwicklung sind die folgenden: In einer Sporocyste bilden sich recht häufig nicht 4, sondern 6 Sporozoiten. Wahrscheinlich rührt dies, wie schon oben (S. 416) dargelegt wurde, von Unregelmäßigkeiten bei dem Zerfall der Oocyste in die Sporoblasten her. Bei der großen Anzahl der in einer Oocyste vorhandenen Kerne ist das Vorkommen solcher Unregelmäßigkeiten nicht überraschend, besonders in Anbetracht der Tatsache, daß die Zahl der Kerne keine bestimmte ist, also gelegentlich auch ungerade sein kann. Auffälliger ist schon, daß in einem Falle in einem beträchtlichen Teil des stark infizierten Hodens fast alle Sporocysten je 6 Sporozoiten enthielten. Manchmal ist die Anzahl der Sporozoiten in einer Sporocyste noch größer, die Zahl der Sporocysten in der Oocyste entsprechend geringer. Dann unterbleibt häufig die Ausbildung einer besonderen Hülle um die einzelnen Sporoblasten. Einige Oocysten habe ich sogar gesehen, deren Inhalt gar nicht in einzelne Sporoblasten zerfallen war, sondern in denen um einen einheitlichen großen Restkörper herum eine ziemlich große Anzahl von Sporozoiten frei in der Cyste lag; die Entwicklung war also in diesem Falle genau nach dem Typus der *Legerella* erfolgt. Nicht selten sind die in dieser Weise gebildeten Sporozoiten erheblich kleiner als die normalen. In anderen Fällen hatten sich von dem Plasma der Oocyste nur einige Sporoblasten abgetrennt und waren zu normalen Sporocysten geworden, während der Rest sich nach der Art der *Legerella* weiter entwickelt hatte.

Neben der Unregelmäßigkeit der Erscheinungen und der Tatsache, daß sie besonders häufig zu einer Zeit beobachtet wurden, in der die Entwicklung der normalen Oocysten bereits vollendet war, spricht gerade das Vorhandensein von Übergängen dafür, daß es sich hierbei nicht etwa um eine zweite in der *Herpobdella* vorhandene Coccidienart oder um nicht erkannte Komplikationen in der Entwicklung von *Orcheobius*, sondern tatsächlich um abnorme Entwicklungserscheinungen handelt.

Das Verhältnis des Parasiten zum Wirt. Abhängigkeit von der Jahreszeit.

An dem oben (S. 382) angegebenen Fundort waren die Orcheobien in der entsprechenden Jahreszeit bis znm Sommer 1904 ziemlich häufig. Es enthielt ungefähr jede fünfte *Herpobdella* eine größere oder kleinere Anzahl von ihnen im Hoden. Dagegen wurden die Parasiten bis znm Sommer des Jahres 1903 einschließlich bei Heidelberg selbst trotz wiederholten Nachsuchens nicht gefunden. Seit 1904 wnrden sie indessen anch hier, zuerst von Herrn Lehramtspraktikant Löser und dann wiederholt 1905 von Herrn Professor Schuberg und 1906 von Herrn Duke angetroffen. Es ist demnach nicht unwahrscheinlich, daß die Infektion sich stromabwärts ausgebreitet hat. Umgekehrt war im Sommer 1905 (nach Beobachtungen von Schuberg, vgl. Schuberg und Kunze 1906) die Zahl der infizierten Blutegel anscheinend geringer, und diese selbst wurden an der nrsprünglichen Fundstelle nur in sehr kleiner Zahl angetroffen Es dürfte wohl nicht unberechtigt sein, für diese Verminderung der Wirtstiere die starke Infektion in den vorangehenden Jahren verantwortlich zu machen.

Eine Schädigung der Fortpflanzung der Herpobdellen durch die Parasiten ist ja anch im höchsten Maße wahrscheinlich, denn man findet im Juli nicht selten Herpobdellen, deren Hoden von Orcheobien fast ganz erfüllt ist. Freilich scheinen auch diese Tiere nicht völlig unfruchtbar zu sein; denn auch bei solchen Exemplaren findet man in den Vasa deferentia stets zahlreiche Spermatozoen, welche augenscheinlich zur Reife gelangt sind, bevor die Infektion ihren Höhepunkt erreicht hat.

Wie oben (S. 382) erwähnt wurde, vermag man sehr stark infizierte Exemplare der *Herpobdella octoculata*, wenn die Orcheobien sich auf dem Stadium der ausgewachsenen Makrogameten nnd Mikrogametocyten befinden oder wenn die Sporogonie bereits vollendet ist, äußerlich von gesunden Tieren zu unterscheiden. Die Ventralseite der ganzen hinteren Körperregion ist bei solchen Exemplaren leicht angeschwollen nnd zeigt eine eigentümliche milchig weiße Färbnng. Es wurde schon oben (S. 382) bemerkt, daß hierdurch die Parasiten zuerst aufgefunden wurden. Schwächer infizierte Herpobdellen dagegen nnd solche, in denen die Parasiten weniger weit entwickelt nnd daher kleiner sind, gleichen äußerlich den gesunden Exemplaren völlig.

Wiederholt ist in der vorliegenden Arbeit daranf hingewiesen

worden, daß die Entwicklnng von *Orcheobius herpobdellae* ganz streng von der Jahreszeit abhängig ist. Etwa vom 10. August bis zum Anfang des April waren die Orcheobien überhaupt nicht in den Herpobdellen nachzuweisen. Dann fanden sich von Anfang April ab nnr Parasiten, die sich ungeschlechtlich fortpflanzten; dagegen wurde in den zahlreichen von mir untersuchten Herpobdellen nach Mitte Mai kein einziges derartiges Exemplar mehr beobachtet; ebenso wnrden die reifen Oocysten niemals vor Anfang Jnni aufgefnnden.

Eine ähnliche Abhängigkeit von der Jahreszeit und der Fortpflanzung des Wirtstieres wurde bereits durch Schuberg (1895) von dem Coccidinm der Tritonen nachgewiesen; er fand im Darme von *Triton taeniatus* nnd *alpestris* im Winter und Frühjahr nur Dauerstadien, die Schizogoniestadien dagegen nnr im Sommer während des Fortpflanzungsgeschäftes.

Beziehung zu verwandten Formen.

In seinem Entwicklungsgange besitzt *Orcheobius herpobdellae*, wie die gesamten obigen Ausführungen zeigen, eine bedentende Ähnlichkeit mit vielen bisher bekannten Coccidien mit polyzoischer Oocyste, hauptsächlich mit den verschiedenen Arten der Gattung *Adelea* und ganz besonders mit *Klossia helicina*, mit der er auch in der Zahl der in einer Sporocyste befindlichen Sporozoiten übereinstimmt. Dennoch nnterscheidet sich *Orcheobius* von *Klossia* dnrch die eigenartige Form der ausgewachsenen Makrogameten nnd Mikrogametocyten nicht unerheblich, und es erwies sich daher als notwendig, eine eigene Gattnng für die nene Form aufzustellen; der Parasit erhielt daher nach seinem Vorkommen den Namen *Orcheobius herpobdellae* Schuberg et Kunze (1906). Es sei hier, der Vollständigkeit halber, die sowohl für die Gattnng als auch für die bisher einzige Art gültige Diagnose wiederholt (nach Schuberg nnd Kunze 1906):

„Mit Generationswechsel. Schizogonie innerhalb der Cytophoren des Herpobdellahodens. Aufnahme der letzten Merozoitengeneration durch die Lymphocyten des Hodens, welche durch die heranwachsenden Parasiten zn einer dünnen Hülle um diese deformiert werden. Mikrogametocyten und besonders Makrogameten von *Monocystis*-artiger Form, doch unbeweglich; mit reichlichen Zooamylnmkörnern. 4 Mikrogameten; Oocyste ellipsoid; mit zahlreichen (25—30) Sporen; Sporen tetrazoisch; kngelig. Größe der reifen Makrogameten 180 μ L. bei 30 μ Br., der Mikrogametocyten 50 μ L. bei 12 μ Br. Habit.: Hoden von *Herpob-*

della atomaria. Beginn der Schizogonie April. Ende der Sporogonie Anfang bis Mitte August".

Durch die Gestalt der ausgewachsenen Formen nähert sich *Orcheobius herpobdellae* den Gregarinen, speziell Monocystideen. Eine ähnliche langgestreckte Gestalt besitzt unter allen bekannten Coccidien meines Wissens nur noch *Angeiocystis audouiniae*, bei welcher nach Brasil (1904 B) die „stades de croissance" eine Länge von 50 μ, dagegen nur einen Durchmesser von 15 μ erreichen, und allenfalls wäre hier noch *Adelea dimidiata coccidioides* zu erwähnen, (Léger und Duboscq 1903 A) das in seiner Gestalt ebenfalls an eine *Monocystis* erinnert.

Orcheobius ist übrigens den Monocystideen noch in anderer Hinsicht ähnlich, nämlich durch das wenigstens zeitweise Auftreten deutlicher Chromosomen und durch seine Ernährungsweise. Die Makrogameten und Mikrogametocyten des *Orcheobius* ziehen nämlich ihre Nahrung, wie oben geschildert wurde, obwohl sie intracellulär in den Lymphocyten bleiben, aus der Hodenflüssigkeit; sie verhalten sich also zu den Lymphocyten genau wie die *Monocystis*-Arten des Regenwurms zu den von ihnen bewohnten Cytophoren.

Bisher konnte eine echte Karyokinese noch bei keinem Coccidium nachgewiesen werden, während sie bei Gregarinen außerordentlich häufig vorkommt. Die größte Ähnlichkeit mit einer typischen Mitose scheint nun von allen beobachteten Teilungen von Coccidienkernen die erste Kernteilung in der Sporogonie von *Orcheobius* zu haben. Es ist (vgl. oben S. 45) höchst wahrscheinlich, daß man es hier mit einer rückgebildeten Karyokinese zu tun hat, und die Tatsache, daß ein den Monocystideen ziemlich nahe stehendes Coccidium diese eigentümliche Kernteilung zeigt, während bei den Monocystideen und anderen Gregarinen echte Karyokinese allgemein verbreitet ist, dürfte eine nicht unwesentliche Stütze bilden für die Vermutung, daß die Monocystideen die gemeinsamen Stammformen der Gregarinen und Coccidien sind, eine Vermutung, welche bereits 1899 von Mesnil ausgesprochen wurde.

Daß die Beziehungen zwischen Gregarinen und Coccidien in der Tat äußerst nahe sind, wie Bütschli, der die Coccidien damals als eine Gruppe der Monocystideen auffaßte, schon 1880—82 betonte, hat sich in neuerer Zeit immer mehr herausgestellt. Abgesehen davon, daß *Orcheobius herpobdellae* kein typischer intracellulärer Parasit ist, haben Laveran und Mesnil (1902 B) bereits vor längerer Zeit ein Coccidium, *Eimeria mitraria*, im Darm der Schildkröte *Damonia reevesii* nachgewiesen, welches gleich den Gregarinen extracellulär

lebt, und bereits vorher hatte LABBÉ (vgl. LABBÉ 1896, S. 626) von einigen Coccidien angegeben, daß sie im ausgewachsenen Zustande intercellulär leben, was SIEDLECKI (1898) von *Eucoccidium octopianum* bestätigte. Die hier zu erwähnende Angabe von A. BRAULT et M. LOEPER [1]) (1904), daß auch die *Eimeria stiedae* der Kaninchen, und zwar während ihrer ganzen Entwicklung, extracellulär ist, dürfte wohl auf grobem Irrtum beruhen.

An die gemeinsame Encystierung zweier Gregarinen erinnert die Anlagerung der Mikrogametocyten an die Makrogameten vieler Coccidien. — Während man eine Zeitlang glaubte, daß von den anisogamen Coccidien die Gregarinen durch ihre Isogamie scharf getrennt seien (SIEDLECKI 1899 B), hat es sich durch die Untersuchungen LÉGERS (1901, 1902 und 1904 A) und anderer Forscher (vgl. besonders LÉGER et DUBOSCQ 1902 B und 1903 B, NUSSBAUM 1903 und BRASIL 1904 A, 1905) herausgestellt, daß sehr viele Gregarinen anisogam sind. — Dnrch CAULLERY und MESNIL wurde 1898 die Schizogonie einer Gregarine entdeckt, und bald wurde auch für andere Gregarinen die Schizogonie nachgewiesen. (LÉGER 1900, CAULLERY und MESNIL 1901). — Daß die gleitende Vorwärtsbewegung der Coccidiensporozoiten in der gleichen Weise erfolgt wie bei den Gregarinen (SCHEWIAKOFF 1894), das nachzuweisen gelang SCHAUDINN (1900). Kurz, man findet kaum noch einen wesentlichen und durchgreifenden Unterschied.

[1]) Die schon oben (S. 395) angeführte Arbeit der beiden genannten Antoren erweckt noch aus anderen Gründen Widerspruch. Es findet sich anf p. 720 über das sogenannte *Coccidium oviforme* (*Eimeria stiedae*) die Angabe: „Il est représenté par des sporozoaires à corps nu pendant le jenne âge, s'entourant, à mesure qu'ils s'accroissent, d'une enveloppe ou coque résistante.“ Anf p. 724 bilden sie als „coccidies nues“ Körper ab, welche, obwohl extracellulär liegend, ganz das Aussehen von Schizonten mit zahlreichen (auf der Figur sind bis zu 19 sichtbar) Kernen haben. BRAULT und LOEPER scheinen der Ansicht zu sein, daß diese vielkernigen Coccidienstadien sich eucystieren und weiterhin Sporocysten und Sporozoiten bilden. Von einer Schizogonie wird nichts erwähnt. Die Verfasser, die mit einer solchen Ansicht nach meiner Kenntnis der Literatur zurzeit völlig allein zn stehen scheinen, berücksichtigen die so außerordentlich reiche moderne Coccidienliteratur überhaupt nicht, und man darf wohl annehmen, daß ihnen dieselbe zum allergrößten Teil unbekannt geblieben ist. Die Bemerkung auf p. 721: „... les auteurs reprodnisent invariablement une figure empruntée à BALBIANI ....“ kann sich wohl nur auf Lehr- oder Handbücher, aber nicht anf die Originalliteratur beziehen.

Literaturverzeichnis.

Bolsius, H. (1895): Note préliminaire sur des parasites de quelques Hirudinées. in: Ann. de la Soc. sci. de Bruxelles 1895 V. 19 2. part. 4 p. 1 pl.

— (1896): Un parasite de la Glossiphonia sexoculata. Mem. Pontif. Accad. Nuovi Lincei V. 11 5 p., 1 pl.

Bonnet-Eymard, G. (1900): Sur l'évolution de l'Eimeria nova Schn. in: C. R. Soc. Biol. Paris 30 juin 1900 V. 52.

Brasil, L. (1904 A): Contribution à la connaissance de l'appareil digestif des Annélides polychètes. L'épithélium intestinal de la Pectinaire. in: Arch. zool. expér. et gén. 4. série V. 2 p. 91—255, 5 pls. 24 figg.

— (1904 B): Sur une Coccidie nouvelle, parasite d'un Cirratulien. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 139 p. 645—646. (24. X. 04.)

— (1905): Nouvelles recherches sur la reproduction des Grégarines monocystidées. in: Arch. zool. expér. et gén. 4 serie V. 4 p. 69—100, 2 pls.

Beault, A. et Loeper, M. (1904): Le glycogène dans le développement de quelques organismes inférieurs. (Sporozoaires, Coccidies, Champignons, Levures.) in: Journ. de Physiol. et de Pathol. gén. V. 6 No. 4 p. 720—731, pl. V.

Bütschli, O. (1871): Notiz über das Vorkommen einer dem Amyloid verwandten Substanz in einigen niederen Tieren. in: Arch. f. Anat. u. Physiol. 1871 p. 362—365 tab. IX B.

— (1880—82): Protozoa. I. Abt.: Sarkodina und Sporozoa. in: Bronn's Klassen und Ordnungen V. 1.

— (1885): Bemerkungen über einen dem Glycogen verwandten Körper in den Gregarinen. in: Zeitschr. f. Biol. 1885 p. 603—612.

— (1890): Über den Bau der Bakterien und verwandter Organismen. in: Verh. d. naturh.-med. Ver. Heidelberg, 6. XII. 89.

— (1903): Untersuchungen über Amylose und amyloseartige Körper. in: Verh. d. naturh.-med. Ver. Heidelberg N. F. V. 7 p. 420—518.

Castle (1900): Some North-American freshwater Rhynchobdellidae, and their parasites. in: Bull. of the museum of Compar. Zool. at Harvard College V. 36 No. 2 p. 17—61, pl. I—VIII.

Caullery, M. et Mesnil, F. (1898): Sur une Grégarine coelomique présentant, dans son cycle évolutif, une phase de multiplication asporulée. in: C. R. Soc. Biol. Paris 15. I. 98 V. 50.

— — (1901): Le parasitisme intracellulaire et la multiplication asexuée des Grégarines. in: C. R. Soc. Biol. Paris 26. I. 01 V. 53.

Cuénot, L. (1902): Legerella testiculi nov. spec., Coccidie parasite du testicule de Glomeris. in: Arch. zool. expér. et gén. 3. série V. 10. Notes et Revue No. 4—5 p. 49—53.

Dogiel, V. (1906): Beiträge zur Kenntnis der Gregarinen. in: Arch. f. Protistenk. V. 7 p. 106—130, Taf. III.

Kloss, H. (1855): Über Parasiten in der Niere von Helix. in: Abh. d. Senckenb. naturf. Ges. V. 1 p. 189—213, Tab. XV—XVI.

Kowalewsky, A. (1899 A): Zur Biologie der Haementaria (Clepsine) costata Fil. (Müller). (Vorläufige Mitteilung.) in: Trav. de la Soc. Impér. des Natural. St. Petersbourg V. 30 Livr. 1 p. 23—30 (russisch); deutsches Resumé p. 33—34.

— (1899 B): Étude biologique de l'Haementaria costata Müller. in: Mem. de l'acad. d. sci. St. Petersbourg 8. série Cl. phys.-math. V. 11 No. 1 p. 1—77, pl. I—X.

Labbé, A. (1896): Recherches zoologiques, cytologiques et biologiques sur les Coccidies. in: Arch. zool. expér. et gén. 3. serie V. 4 p. 517—654, Tab. XII —XVIII.

Laveran, A. (1898): Sur les modes de reproduction de Klossia helicina Schn. in: C. R. Soc. Biol. Paris 26. XI. 98 V. 50.

Laveran, A. et Mesnil, F. (1902 A): Sur la Coccidie trouvée dans le rein de la Rana esculenta et sur l'infection générale qu'elle produit. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 135 No. 2 p. 82—87, 11 fig.

— — (1902 B): Sur quelques Protozoaires parasites d'une Tortue d'Asie (Damonia Reevesii). in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 135 No. 16 p. 609-614, 14 fig.

Léger, L. (1898 A): Essai sur la classification des Coccidies et description de quelques espèces nouvelles ou peu connues. in: Bull. du Musée de Marseille V. 1 fasc. 1 p. 71—123, Tab. V—VIII.

— (1898 B): Sur les microgamètes des Coccidies. in: C. R. Soc. Biol. Paris 11. VI. 98 V. 50.

— (1900): Sur un nouveau Sporozoaire des larves des Diptères. in: C. R. Soc. Biol. Paris 27. X. 00 V. 52.

— (1901): Les éléments sexuels et la copulation chez les Stylorhynchus. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris 26. VIII. 01.

— (1902): Note sur le développement des éléments sexuels et la fécondation chez le Stylorhynchus longicollis. in: Arch. zool. expér. et gén. 3. série V. 10. Notes et Revue No. 4—5.

— (1904 A): La reproduction sexuée chez les Stylorhynchus. in: Arch. f. Protistenk. V. 3 p. 303—357, Taf. XIII—XIV 8 Textfig.

— (1904 B): Sporozoaires parasites de l'Embia solieri Rambur. in: Arch. f. Protistenk. V. 3 p. 358—366, 7 Textfig.

Léger, L. et Duboscq, O. (1902 A): Les Grégarines et l'épithélium intestinal chez les Trachéates. in: Arch. de Parasit. V. 6 p. 377—473, pl. II—VI.

— — (1902 B): Les éléments sexuels et la fecondation chez les Pterocephalus. in: C. R. de l'Acad. d. Sci. Paris 20. V. 02, 2 pag.

— — (1903 A): Sur l'Adelea dimidiata coccidioides Léger et Duboscq. Coccidie parasite de la Scolopendra oraniensis lusitanica Verh. in: C. R. Ass. franç. Av. Sc.; 31. session II p. 714—716.

— — (1903 B): La reproduction sexuée chez Pterocephalus. in: Arch. zool. expér. et gén. 4. série V. 1. Notes et Revues p. 141—150, 11 fig.

Lühe, M.: (1903): Die Coccidienliteratur der letzten vier Jahre. Zool. Centralbl. X. Jahrg. p. 617—661.

Maupas, E. (1886): Sur les granules amylacés du cytosome des Grégarines. in: C. R. Acad. d. Sci. Paris V. 102 p. 120—123.

Mesnil, F. (1899): Essai sur la classification et l'origine des Sporozoaires. in: Cinquantenaire de la Soc. d. Biol.

Metzner, R. (1903): Untersuchungen an Coccidium cuniculi. I. Teil. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 p. 13—72. Taf. II.

Meyer, A. (1904): Orientierende Untersuchungen über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Botan. Ztg. 1904 Heft 7.

Nussbaum, J. (1903): Über die geschlechtliche heterogame Fortpflanzung einer im Darmkanale von Henlea leptodera Vejd. schmarotzenden Gregarine Schaudinella henleae mihi. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 75 p. 281—307, 1 Taf.

Pérez, Ch. (1899): Sur une Coccidie nouvelle, Adelea mesnili n. sp., parasite cœlomique d'un Lepidoptère. in: C. R. Soc. Biol. Paris V. 51 p. 694—696.

— (1903): Le cycle évolutif de l'Adelea mesnili, Coccidie cœlomique parasite d'un Lepidoptère. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 p. 1—12, Taf. I.

Schaudinn, F. (1900): Untersuchungen über den Generationswechsel bei Coccidien. in: Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontog. der Tiere V. 13 p. 197—292, Taf. XIII—XVI.

— (1902): Studien über krankheitserregende Protozoen. I. Cyclospora caryolytica Schaud., der Erreger der perniciösen Enteritis des Maulwurfes. in: Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte V. 18 p. 378—416.

Schaudinn, F. u. Siedlecki, M. (1897): Beiträge zur Kenntnis der Coccidien. in: Verh. d. deutsch. zool. Ges. 1897.

Schewiakoff, W. (1894): Über die Ursache der fortschreitenden Bewegung der Gregarinen. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 58 p. 340—354, Taf. XX—XXI.

Schnitzler, H. (1905): Über die Fortpflanzung von Clepsidrina ovata. in: Arch. f. Protistenk. V. 6 p. 309—333, Taf. XVI—XVII.

Schuberg, A. (1895): Die Coccidien aus dem Darme der Maus. Verh. d. naturhist.-med. Ver. Heidelberg N. F. V. 5 30 S. Taf. IX.

— (1903): Untersuchungen über Zellverbindungen. I. Teil. in: Zeitschr. f. wiss. Zool. V. 74 p. 155—325, Taf. IX—XV.

Schuberg, A. u. Kunze, W. (1906): Über eine Coccidienart aus dem Hoden von Nephelis vulgaris (Herpobdella atomaria), Orcheobius herpobdellae n. gen. n. sp. in: Verh. d. Deutsch. zool. Ges. 1906.

Sergent, E. (1902): Sur une Coccidie nouvelle parasite du Caméléon vulgaire. in: C. R. Soc. Biol. Paris V. 54 p. 1260—1261.

Siedlecki, M. (1898): Etude cytologique et cycle évolutif de la Coccidie de la Seiche. in: Ann. de l'Inst. Pasteur V. 12 p. 799—836, pl. VII—IX.

— (1899 A): Etude cytologique et cycle évolutif de Adelea ovata Schneider. in: Ann. de l'Inst. Pasteur V. 13 p. 170—192 Taf. I—III.

— (1899 B): Über die geschlechtliche Vermehrung der Monocystis ascidiae R. Lank. in: Bull. intern. de l'Acad. des Sc. de Cracovie Dez. 1899 p. 515—537, pl. I—II.

— (1902): Cycle évolutif de la Caryotropha mesnilii, Coccidie nouvelle des Polymnies. Note préliminaire. in: Bull. Intern. de l'Acad. des Sc. de Cracovie Cl. Sci. math. et nat. 1902 p. 561—568.

— (1905): Sur le rôle du karyosome. (Über die Bedeutung des Karyosoms.) in: Bull. Intern. de l'Acad. des Sci. de Cracovie Cl. Sci. math. et nat. 1905 p. 559—581, pl. XVI.

Siegel, C. (1903): Die geschlechtliche Entwicklung von Haemogregarina stepanovi im Rüsselegel Placobdella catenigera. in: Arch. f. Protistenk. V. 2 p. 339—342 7 Fig.

Wasielewsky, Th. von (1898): Über geißeltragende Coccidienkeime. Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten I. Abt. V. 24 p. 71—78.

Tafelerklärung.

Die Figuren wurden mit Hilfe eines ABBÉ'schen Zeichenapparates auf Objekttischhöhe entworfen.

Auf den Tafeln bedeutet: ♀ Makrogamet; ♂ Mikrogamet; *bh* Befruchtungshügel; *bk* Binnenkörper; *cy* Cytophor; *ly* Lymphocyt (bzw. Rest desselben); *mi* Mikrogametocyte; *n* Kern; *o* Oocystenhülle; *rk* Restkörper; *sp* Sporenmembran; *wk* Kern der Wirtszelle

In der Erklärung bedeutet: T.-Pr. Totalpräparat; di S. relativ dicker Schnitt (der ganze Parasit liegt in einem Schnitt, oder es sind nur unwesentliche Teile des Plasmas abgeschnitten); dü S. relativ dünner Schnitt (der Parasit ist selbst durchschnitten).

Tafel XVI.

Nach lebenden Präparaten gezeichnet.

Fig. 1. Junger Schizont in einem Cytophor. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 2 u. 3. In Teilung begriffene Schizonten. (Das Wirtscytophor wurde nicht gezeichnet.) Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 4. Junger Merozoit. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 5. Mehrere Merozoiten in einem Lymphocyten. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 6. Wie Fig. 5; der Lymphocyt enthält neben den jungen Orcheobien ein Cytophor. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 7. Heranwachsende Gametocyten in einem Lymphocyten. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 8. Ausgewachsener Makrogamet (♀) mit anliegendem Mikrogametocyt (*mi*). Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 9. Der Makrogamet (♀) hat begonnen, sich zu kontrahieren, der Mikrogametocyt (*mi*) hat sich abgerundet. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 10 u. 11. Ähnlich Fig. 9; jedoch liegen zwei Mikrogametocyten (*mi*) dem Makrogameten (♀) an. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 12. Bildung der Mikrogameten an dem Mikrogametocyten. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 13a u. b. Mikrogamet, a von der Fläche, b von der Seite. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 14. Die vier Mikrogameten (♂) haben sich von den Mikrogametocyten (*mi*) losgelöst. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 15. Befruchteter Makrogamet. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2; ohne Zeichenapparat. a) Stadium der Befruchtungsspindel. b) Das gleiche Exemplar etwas später; der Kern hat sich an einem Pol zusammengezogen. c) Das gleiche Exemplar; der Kern ist im Begriff, sich zu teilen.

Fig. 16. Sporulation; Pyramidenstadium. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 17. Etwas späteres Stadium. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 18. Der Sporont ist in die einzelnen Sporoblasten zerfallen. Imm. 2 mm, C.-Oc. 2.

Fig. 19. Einzelne, unreife Sporocyste. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 20. Reife Sporocyste. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 21a—c. Herausgepreßter Sporozoit; dasselbe Exemplar in verschiedenen Bewegungsstadien. Vergr. etwa 1000, ohne Zeichenapparat gezeichnet.

Tafel XVII u. XVIII.

Nach konservierten Präparaten gezeichnet. Fixierung: Alkohol-Eisessig.

Fig. 22. Schizont in einem Cytophor. T.-Pr. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 23. Wie Fig. 22; die erste Kernteilung wird eingeleitet. di S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 24. Schizont nach der ersten Kernteilung. dü S. Boraxkarmin, Hämatoxylin, Kaliummonochromat. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 25—27. Schnitte durch Schizonten, in denen bereits mehrere Kerne vorhanden sind; das Wirtscytophor wurde nicht gezeichnet. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 28. Beginn der Merozoitenbildung. di S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 29. Späteres Stadium der Merozoitenbildung (vgl. Fig. 2). di S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 30. Die einzelnen Merozoiten haben sich voneinander getrennt. (Zwei ganz unten liegende Merozoiten sind auf der Zeichnung nicht sichtbar.) di S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C. Oc. 8.

Fig. 31. Ein junger Merozoit. di S. Delafield'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 32 u. 33. Heranwachsende Merozoiten. Bildung des Binnenkörpers und der Kernmembran. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 34. Zwei heranwachsende Merozoiten in einem Lymphocyten; Makrogamet (♀) und Mikrogametocyt (*mi*) sind bereits unterscheidbar. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 35. Makrogamet (♀) und Mikrogametocyt (*mi*) in einem Lymphocyten (*ly*), älteres Stadium als Fig. 34. di S. Delafield'sches Hämatoxylin, Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 36. Zahlreiche Makrogameten und Mikrogametocyten in einem Lymphocyten. Die Struktur wurde der Deutlichkeit halber nicht eingezeichnet. T.-Pr. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 37. Ausgewachsener Makrogamet (♀) mit anliegendem Mikrogametocyt (*mi*). T.-Pr. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 38—40. Mikrogametocyten. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 38. Der Mikrogametocyt hat sich abgerundet. di S. Boraxkarmin, Bleu de Lyon.

Fig. 39. Der Kern beginnt sich zu teilen. di S. Boraxkarmin. Bleu de Lyon.

Fig. 40. Die Kernteilung ist fast vollendet. di S. Delafield'sches Hämatoxylin.

Fig. 41. Befruchtungsspindel. dü S. Boraxkarmin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 42. Späteres Stadium derselben. dü S. Delafield'sches Hämotoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 43. Die Befruchtungsspindel beginnt sich rückzubilden. di S. Boraxkarmin, Bleu de Lyon. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 44. Etwas späteres Stadium. di S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 45. Erste Kernteilung; die Chromosomen (vgl. Textfig. XI u. XII) sind bereits zurückgebildet. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 46. Die Kernteilung ist fast vollendet. dü S. Boraxkarmin, Delafield-sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 47. Oocyste mit zwei Kernen. T.-Pr. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 48a u. b. In Teilung begriffene Kerne während der zweiten Kernteilung in der Oocyste. dü S. Boraxkarmin, Bleu de Lyon. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 49. Ein ruhender Kern aus einer vielkernigen Oocyste. dü S. Boraxkarmin, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 50. In Teilung begriffener Kern aus einer etwa 12kernigen Oocyste. dü S. Boraxkarmin, Blochmann'sche Lösung. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 51a—c. Letzte Kernteilung an der Oocyste. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 52. Die einzelnen Sporoblasten sondern sich innerhalb der Oocyste. dü S. Boraxkarmin, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 53. Wie Fig. 52. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 54. Die Sporoblasten haben sich gesondert. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 8.

Fig. 55. Wie Fig. 54. T.-Pr. Delafield'sches Hämatoxylin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Fig. 56. Einzelner Sporoblast mit zwei noch im Ruhezustand befindlichen Kernen. dü S. Boraxkarmin, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 57. Die zwei Kerne im Sporoblasten schicken sich zur Teilung an. dü S. Boraxkarmin, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 58 u. 59. Sporoblasten, deren Kerne in Teilung begriffen sind. dü S. Boraxkarmin, Nigrosin, Pikrinsäure. Imm 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 60. Die Kernteilungen sind soeben vollendet. dü S. Boraxkarmin, Bleu de Lyon. Imm. 2 mm. C.-Oc. 12.

Fig. 61. Die Kerne sind wieder im Ruhezustand. di S. Boraxkarmin, Bleu de Lyon. Imm. 2 mm, C.-Oc. 12.

Fig. 62. Degenerierte Kernteilung in der Oocyste. dü S. Delafield'sches Hämatoxylin. Eosin. Imm. 2 mm, C.-Oc. 4.

Über ein paar interessante neue Protozoenformen aus dem Atlantischen Ozean und Anderes.

Dritte Mitteilung
über die Tripyleen-Ausbeute der Plankton-Expedition.

Von
A. Borgert (Bonn).

(Hierzu 10 Textfiguren.)

Dem liebenswürdigen Entgegenkommen Prof. K. Brandt's in Kiel, der mir die ursprünglich zu eigener Untersuchung ausersehenen Tierformen zur Bearbeitung überließ, verdanke ich die Möglichkeit, hier über einige neue Protozoenarten aus den Fängen der Plankton-Expedition berichten zu können. Der Umstand, daß ich erst seit kurzem über das interessante Material verfüge, erklärt, warum die im Folgenden behandelten Organismen, die sich in systematischer Hinsicht einer der bereits von mir bearbeiteten Tripyleen-Familien anschließen, dort nicht schon Berücksichtigung fanden.

Wenn hier auch kein ausführlicher Bericht gegeben werden kann, ein solcher vielmehr den „Ergebnissen der Plankton-Expedition" vorbehalten bleiben muß, so möchte ich doch nicht darauf verzichten, die Aufmerksamkeit auf die in Rede stehenden merkwürdigen Protozoenformen zu lenken, zu einer Zeit, da noch ein reiches, in den verschiedensten Gegenden der Erde gesammeltes Material sich in Bearbeitung befindet. Auch früheren Meeres-Expeditionen werden die zum Teil ansehnlich großen und nicht allzu seltenen Formen schwerlich entgangen sein, sie fanden jedoch keinen Bearbeiter; vielleicht wußte man sie hinsichtlich ihrer Stellung im Systeme nirgends recht unterzubringen.

Die Formen, um die es sich hier handelt, sind auffallend gestaltete, bald mit kurzen dicken Fortsätzen, bald mit langen dünnen Armen ausgestattete Organismen, die an ihrer Oberfläche von einer deutlichen Membran umkleidet, in ihrem Innern einen großen Kern, umgeben von einer mehr oder minder reichlichen Protoplasmamasse, aufweisen. Zu diesen Arten treten andere, die das Aussehen einer einfachen kugeligen oder leicht eiförmigen Blase besitzen, die aber auch noch wieder ein verschiedenes Bild darbieten können.

Bei allen diesen Organismen ist der Protoplasmakörper regelmäßig peripher der Hüllmembran angelagert. Er bezeichnet den oralen Pol des Tieres und bildet hier eine einfach runde oder am Rande in radiäre Strahlen auslaufende Scheibe, die in der verdickten Mitte den großen bläschenförmigen Kern umschließt. Die dünnere Randpartie der Protoplasmamasse läßt meistens eine deutliche Vacuolisierung erkennen. Bei einzelnen dieser Formen geht von dem Protoplasmakörper ein derber Verbindungsstrang durch den Hohlraum der Blase nach einer anderen Stelle der Körperwandung, wo er eine strahlige Teilung erfährt und sich schließlich in ein die Innenfläche der Hülle überspinnendes Maschenwerk von feinen Strängen auflöst. Kieselige Skeletbildungen gelangten nur bei einer Art zur Beobachtung.

So sehr auch die in Rede stehenden Formen auf den ersten Blick von den Tripyleen abweichen, wie sie durch R. Hertwig's und Haeckel's Arbeiten bekannt geworden sind, so sicher weist uns eine genauere Untersuchung der neuen Formen auf diese Radiolariengruppe hin. Besonders sind es die durch die Plankton-Expedition zuerst erbeuteten eigentümlichen Atlanticelliden,[1]) zu denen die nächsten Beziehungen bestehen.

Wie bei den Atlanticelliden, so handelt es sich auch in dem vorliegenden Falle um Arten mit stark vergrößerter, blasig aufgetriebener und nicht von Skeletbildungen umschlossener Centralkapsel, die auch — von einer Ausnahme abgesehen — an der Stelle, wo der Protoplasmakörper der Membran anliegt, einen kreisförmigen Öffnungshof mit radiärer Streifung aufweist. Diese Bildung ist in denjenigen Fällen, wo der Protoplasmakörper seine normale Lage an der Wandung hat, nicht leicht wahrzunehmen. Sie tritt aber bei Exemplaren, bei denen sich das Protoplasma von der Membran losgelöst hat oder wo es in Zerfall geraten ist, sehr

[1]) A. Borgert: Die tripyleen Radiolarien der Plankton-Expedition. *Atlanticellidae.* In: Ergebnisse der Plankton-Expedition Bd. III L. h. 3 1905

deutlich, namentlich nach Anwendung von Farbstoffen, hervor. Die vom Centrum nach der Peripherie hin an Breite zunehmenden radiären Streifen färben sich kräftig wie die Centralkapselmembran im übrigen, wohingegen die Zwischenräume zwischen den Strahlen hell bleiben. Im Centrum des Öffnungshofes oder Strahlendeckels liegt die Hauptöffnung mit der für dies Gebilde des Tripyleenkörpers charakteristischen Protoplasmastruktur.

Während aber bei den Atlanticelliden die Centralkapsel vier runde buckelartige Vorwölbungen besitzt, die im Viereck die in ihrer Mitte gelegene Hauptöffnung umstehen und so der Blase etwa die Form eines Apfels oder einer Tomatenfrucht geben, sehen wir bei den hier neu zu beschreibenden Arten die Centralkapsel entweder in Gestalt einer einfachen Kugel ausgebildet, oder es sind an derselben Aussackungen in wechselnder Zahl entwickelt, die

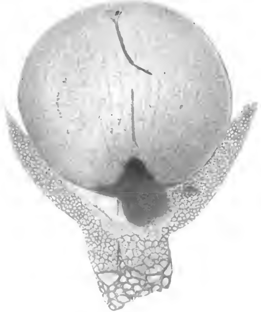


Fig. 1.
Halocella gemma n. g., n. sp. Totalbild (nach einer Zeichnung von Prof. K. Brandt). Vergr. Seibert Objektiv I, Okular (periskopisch) 2.

bald als breite taschenartige Ausstülpungen der Membran, bald als dünne hohle armähnliche Fortsätze des Tierkörpers erscheinen.

Daß auch kieselige Skeletbildungen vorhanden sein können, er-

wähnte ich bereits. Diese sind, wie bei *Atlanticella*, dem oralen Pol der Centralkapsel vorgelagert.

In Fig. 1 gebe ich nach einer mir von Herrn Prof. Brandt gütigst zur Verfügnng gestellten Zeichnung die Abbilduug einer neuen Art, die sich durch den Besitz eines Kieselskelets auszeichnet. Ich möchte für die neue Gattnng, die für diese Form zu begründen ist, den Namen *Halocella* und für die betreffende Species die Bezeichnung *Halocella gemma* in Vorschlag bringen.

Die Centralkapsel ist in diesem Falle kugelig rnnd. Das Skelet besteht aus einem unregelmäßigen Maschenwerk von Kieselfäden, wie die Abbildung es zeigt, und weicht dadurch ebenfalls nicht unwesentlich von der entsprechenden Bildung bei der Gattung *Atlanticella* ab, wo ein hohler centraler Klöppel entwickelt ist, an dessen Randfortsätzen röhrenartige, mit inneren Scheidewänden versehene Stacheln entspringen. So erinnert es denn mehr an die Skeletbildungen gewisser Cyrtoiden oder Spyroiden unter den Nasselarien. Eine Übereinstimmung mit den Atlanticellen besteht dagegen in dem Vorhandensein einer einzigen oralen Öffuung in der Centralkapselmembran, wie sie sich in ähnlicher Gestaltung bei der Mehrzahl der Tripyleen findet. Auch das Phäodium fehlt als weiterer charakteristischer Bestandteil nicht.

Bei den Formen mit breiten Aussackungen fanden sich dagegen Skeletbildungen nirgends entwickelt. Da in der Zahl und Auordnuug der Membranausstülpungen wechselnde Verhältnisse bestehen, so zeigen diese Organismen je nach deren Ausbildung ein ziemlich verschiedenes Aussehen. Ich beschränke mich hier darauf, in Fig. 2 ein dreizipfeliges Tier abzubilden. Fig. 3 zeigt außerdem uoch den oralen Strahlendeckel der Hauptöffnung eines anderen Exemplars. Die centrale dunkle Masse wird von den protoplasmatischen Resten der Astropyle gebildet. Die Gattung, zu der ich diese Formen stelle, mag den Namen *Lobocella* führen.

Da ich nicht glaube annehmen zu sollen, daß die verschiedenen Formen alle selbständige Species darstellen, so fasse ich dieselben unter dem gemeinsamen Artnamen *Lobocella proteus* zusammen und unterscheide nach der Zahl der Fortsätze in den einzelnen Fällen durch Zufügung der Bezeichnung: *forma biloba, triloba* usw.

Was die Strukturverhältnisse des Weichkörpers betrifft, so möchte ich auf die in der Zeichnung Fig. 2 möglichst genau wiedergegebene Verteilung des Protoplasmas hinweisen. Wir sehen von der aboralen Fläche der scheibenartig abgeflachten Hauptmasse einen dicken Stamm entspriugen, der, nach einem anderen Puukt

der Oberfläche gerichtet, sich an der Hüllmembran fontänenartig in einen Kranz feinerer Stränge auflöst. Ein Teil dieser Protoplasmaströme kehrt auf dem nächsten Wege als dicke Adern zum Rande

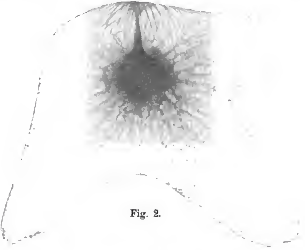


Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 2 u. 3. *Loborella proteus* n. g., n. sp.

Fig. 2. Dreizipfeliges Exemplar, von der aboralen Seite gesehen. Vergr. 40fach.

Fig. 3. Strahlendeckel eines siebenzipfeligen Individuums. Die Membran stark mit Hämatoxylin gefärbt. In der Mitte ein Rest des protoplasmatischen Teiles der Hauptöffnung. Vergr. 100fach.

der Protoplasmascheibe zurück, die übrigen lösen sich dagegen in ein feines unregelmäßiges Maschenwerk auf, das sich auf der Innenfläche der Hüllmembran ausbreitet und sich schließlich in den radiären sich verzweigenden Ausläufern der Protoplasmascheibe wieder sammelt.

Mit einiger Wahrscheinlichkeit ist wohl anzunehmen, daß die geschilderten Strukturen der Ausdruck einer bei dem lebenden Tiere bestehenden kreisenden Protoplasmaströmung sind, die, von der Hauptmasse ausgehend und wieder zu ihr zurückkehrend, entweder den vorstehend skizzierten Weg nimmt, oder im umgekehrten Verlauf ihren Ursprung in den radiären Ausläufern des Protoplasmakörpers besitzt, aus deren feinen Verästelungen sich der Strom schließlich von allen Seiten her in dem dicken, eine deutliche Längsfaserung zeigenden Hauptstamm auf der aboralen Seite der Protoplasmascheibe wieder vereinigt.

Die ganze Art der Protoplasmaverteilung erinnert stark an das Bild, das sich in dieser Beziehung bei den Cystoflagellaten, *Noctiluca* und *Leptodiscus*, darbietet, bei denen ebenfalls die Hauptmasse des Protoplasmas um den nahe der Körperwand gelegenen Kern konzentriert ist, während sich im übrigen ein peripheres feines Netzwerk von Protoplasmafäden ausgebildet findet. Auch hinsichtlich des Vorhandenseins eines von der Hauptmasse nach der Hüllmembran gehenden dickeren Protoplasmastranges von faseriger Struktur würden Anklänge bestehen. Andererseits gemahnen die Organisationsverhältnisse an das Bild, das sich bei den Arten der Gattung *Pyrocystis* darbietet.

Erwähnt sei übrigens noch, daß in den strahligen Fortsätzen der Protoplasmascheibe bei *Lobocella* meistens deutlich ein hyaliner festerer Achsenfaden zu erkennen war.

Für die dritte Gruppe von Formen ist, wie schon hervorgehoben wurde, die Ausbildung langer horn- oder armartiger Fortsätze charakteristisch. Auch hier unterliegt die Zahl der betreffenden Bildungen dem Wechsel. In Fig. 4 habe ich nach einer von Herrn Prof. Brandt mit dem Zeichenapparat entworfenen Umrißskizze ein Exemplar mit nur zwei Fortsätzen wiedergegeben. Die von mir selbst untersuchten Stücke hatten alle eine größere Zahl von Armen. Fig. 5 zeigt ein anderes Individuum mit sechs Fortsätzen, die hier jedoch nicht in ihrer vollen Länge zur Darstellung gebracht sind. Die Membran weist eine Unmenge kleiner Falten und Fältchen auf, wie bei fast allen mir vorliegenden konservierten Stücken. In der oberen Hälfte der Figur sieht man den großen runden Strahlendeckel der Hauptöffnung.

Der Weichkörper, der bei dem in Fig. 5 dargestellten Exemplar in Zerfall geraten war und in der Zeichnung fortgelassen ist, zeigt



Fig. 4.

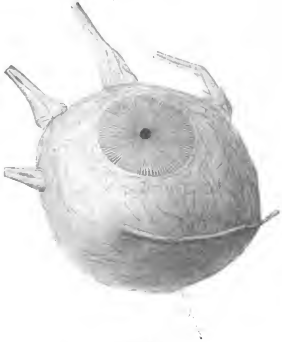


Fig. 5.

Fig. 4 u. 5. *Cornucella maya* n. g., n. sp.

Fig. 4. Zweihörniges Exemplar von der aboralen Seite gesehen (nach einer mit Seibert's Objektiv I gezeichneten Umrißskizze von Prof. K. Brandt), auf $^2/_3$ verkleinert.

Fig. 5. Ein Individuum mit sechs Körperfortsätzen, unter Fortlassung der in Zerfall geratenen protoplasmatischen Teile gezeichnet. In der oberen Hälfte der Figur der große runde Strahlendeckel. Vergr. 30fach.

im wesentlichen den gleichen Bau wie bei der Gattung *Lobocella*. Wir sehen auch bei diesen Formen einen kräftigen Strang auf der aboralen Seite der in radiäre Strahlen sich fortsetzenden Protoplasmascheibe entwickelt, dessen äußeres Ende an der Membran nach allen Seiten hin dünnere Ausläufer entsendet.[1]) Fig. 4 zeigt in der nach rechts weisenden Spitze diese Bildung in unvollständigem Erhaltungszustand.

Ich vereinige die in Rede stehenden Formen in der neuen Gattung *Cornucella*. Hinsichtlich der näheren Benennung verfahre ich wie bei dem Genus *Lobocella*. Als einzige Art führe ich die Species *Cornucella maya* auf und unterscheide bei dieser eine *forma bicornis, tricornis* usw.[2])

Wie bei den Gattungen *Halocella* und *Lobocella* ist auch bei dem Genus *Cornucella* nur eine einzige Hauptöffnung oder Astropyle mit radiär gestreiftem Öffnungshof vorhanden, wie dies schon aus Fig. 5 ersichtlich ist.

Zu den ersterwähnten Formen mit kugeliger Centralkapsel kommen nun noch andere hinzu, die, einerseits eines Skelets entbehrend, sich von der Gattung *Halocella* außerdem auch noch durch das Vorhandensein einer größeren Zahl von Öffnungen in der Kapselmembran unterscheiden. In dieser Beziehung bestehen ganz ähnliche Verhältnisse wie bei der Gattung *Nationaletta*,[3]) und es läge wohl der Gedanke nahe, daß die aufgefundenen Blasen dieser Art nur die isolierten Centralkapseln von *Nationaletta fragilis* oder einer anderen nahe verwandten Form darstellen.

[1]) Nach der von *Halocella* vorliegenden Brandt'schen Abbildung scheint es, daß auch bei dieser Gattung ganz ähnliche Strukturverhältnisse des Weichkörpers bestehen. Die Figur läßt einen von der Wölbung des Protoplasmakörpers nach der gegenüberliegenden Seite der Centralkapsel verlaufenden, bei dem gezeichneten Exemplar zerrissenen Strang und außerdem eine netzartige Felderung der Blasenwandung erkennen, die in diesem Falle jedoch viel feiner als beispielsweise bei *Lobocella* ist.

[2]) Vereinzelt schien es mir allerdings, als ob „gezipfelte“ Formen durch stärkeres Längenwachstum der Fortsätze in „gehörnte“ übergehen könnten. Auch möge bei dieser Gelegenheit auf die schon in der Bearbeitung der *Atlanticella*-Arten betonte Möglichkeit hingewiesen sein, daß es sich bei den hier neu beschriebenen eigenartigen Protozoen nur um Entwicklungszustände irgend welcher anderen Formen handelt.

[3]) Vgl. A. Borgert: Die tripyleen Radiolarien der Plankton-Expedition. *Medusettidae*. In: Ergebnisse der Plankton-Expedition. Bd. III L. b. 4 1906.

Desgl. V. Haecker: Über einige große Tiefsee-Radiolarien. Siebente Mitteilung über die Radiolarien der „Valdivia“-Ausbeute. In: Zool. Anz. Bd. XXX Nr. 26 1906.

Dennoch scheinen mir Gründe für die Annahme zu bestehen, daß es sich hier um eine besondere Art oder wahrscheinlicher sogar eine eigene Gattung handelt.

Die in Rede stehenden Organismen bieten das Bild einer kugeligen Blase, die an einer Seite, der Membran angelagert, einen scheibenartigen, am Rande dünn auslaufenden, in der Mitte verdickten Protoplasmakörper aufweist. Das Protoplasma ist vacuolisiert und umschließt einen voluminösen runden Kern, dessen Vorhandensein sich durch eine Vorwölbung des Protoplasmas in das Innere der Kugel schon bei flüchtiger Betrachtung bemerkbar macht. In Fig. 6 habe ich ein Exemplar, vom aboralen Pole gesehen, zur Darstellung gebracht.

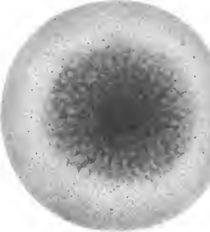


Fig. 6.
Globicella pila n. g., n. sp. vom aboralen Pol gesehen. Vergr. 60fach.

Am Rande der Scheibe sieht man gelegentlich das Protoplasma in feine Stränge auslaufen, die sich in Reihen von Körnchen auflösen. Durch diese erscheint meist die ganze Wandung der Blase unregelmäßig punktiert. Zwischen den kleinen Körnchen gewahrt man vielfach noch größere rundliche Klümpchen, die dann gewöhnlich zu Strängen angeordnet und durch feine Fäden mit einander verbunden sind. In einem Falle sah ich einen vollständig geschlossenen derartigen Ring im Äquator der Kugel ausgebildet. Offenbar handelt es sich auch in diesem Falle um die Teile eines peripheren Protoplasmanetzes.

An der oralen, durch die Protoplasmascheibe gekennzeichneten Seite der Blase finden sich eine größere Anzahl nach dem Astropylen-

typus gebaute Öffnungen, durch die das Kapselinnere mit der Außenwelt kommuniziert. Die breit kegel- oder buckelförmig gestalteten, ein wenig über die Oberfläche hervortretenden Öffnungen sind ziemlich gleichmäßig über die gewölbte Fläche im Gebiete der Protoplasmascheibe verteilt, wie dies aus dem in Fig. 8 abgebildeten Tangentialschnitt durch die orale Partie einer solchen Blase gut ersichtlich ist. Ein medianer Längsschnitt durch den kugeligen Tierkörper ist in Fig. 7 wiedergegeben; auch in diesem Falle sind mehrere Öffnungen durch den Schnitt getroffen. Derselbe läßt ferner erkennen, daß der Hohlraum der Blase über der Protoplasmascheibe keine weiteren Bildungen umschließt; vermutlich ist er bei dem lebenden Tier mit einer Flüssigkeit erfüllt.

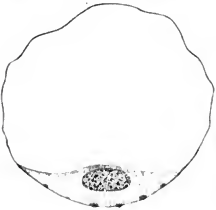


Fig. 7.

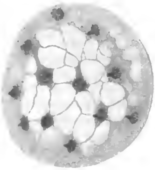


Fig. 8.

Fig. 7 u. 8. *Globicella pila* n. g., n. sp.

Fig. 7. Medianer Längsschnitt, mehrere Öffnungen getroffen. Vergr. 60fach.

Fig. 8. Tangentialer Schnitt vom oralen Pol, mit einer größeren Zahl von Öffnungen. Vergr. 170fach.

Über den Kern kann ich nur soviel sagen, daß er den bei *Atlanticella* und anderen Tripyleen beobachteten Bau zeigt, wie dies auch Fig. 7 zeigt.

Was nun noch die äußere Hülle betrifft, die die Wandung der Blase bildet, so ist die Membran einschichtig.

Zum Unterschied füge ich aus dem Material, das mir Herr Dr. Fowler freundlichst zur Verfügung stellte, auch einen medianen Längsschnitt durch die Centralkapsel von *Nationaletta fragilis* bei (Fig. 9).

Wie ein Vergleich der beiden bei gleicher Vergrößerung gezeichneten Bilder Fig. 7 u. 9 lehrt, bildet bei *Nationaletta fragilis* der Protoplasmakörper eine viel kompaktere Masse.[1]) Dazu kommt, daß die Öffnungen auf eine kleinere, deutlich abgeplattete Fläche beschränkt erscheinen und daß sie selbst wesentlich schwächer entwickelt sind.

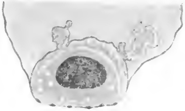


Fig. 9.
Nationaletta fragilis [Borgert]. Medianer Längsschnitt durch die Centralkapsel. Vergr. 60fach.

Ein weiterer Unterschied ist der, daß bei *Nationaletta fragilis* die Membran der Centralkapsel zweischichtig ist. Zwar gibt Fowler an, daß in dieser Beziehung eine Verschiedenheit bestehe, doch fand ich unter den mir gesandten Stücken nur solche mit doppelter Hüllmembran, im wesentlichen dem Totalbilde Fig. 1 in Fowler's Abhandlung entsprechend, wo die innere Haut zu einem kleineren faltigen Sack zusammengeschrumpft dargestellt ist.

Der Protoplasmakörper erscheint an meinen Schnittpräparaten auch auf der aboralen Seite ziemlich scharf begrenzt. Ein nicht allzu breiter, mit Gerinnsel erfüllter Zwischenraum trennt die Protoplasmamasse von der inneren Membran, an der eine mannigfache Faltung und große bruchsackartige Ausstülpungen auffallen. Nur an der oralen Fläche und eine kurze Strecke an den Seiten des Protoplasmakörpers sind äußere und innere Hülle zu einer einheitlichen Membran verschmolzen, im übrigen sind sie durch einen weiten, von einer homogenen, stark färbbaren Substanz — wohl einer Gallerte — erfüllten Zwischenraum von einander getrennt.[2])

[1]) Vgl. auch die Abbildungen bei Fowler (Notes on the anatomy of *Gazelletta*. In: Quarterly Journal of Microscopical Science Vol. 48 Part III 1904 p. 485 Fig. 2) und V. Haecker (Über einige große Tiefsee-Radiolarien. Siebente Mitteilung über die Radiolarien der „Valdivia"-Ausbeute. In: Zool. Anz. Bd. XXX Nr. 26 1906 p. 892 Fig. 15).

[2]) Wie ich sehe, erwähnt auch Fowler schon Exemplare, die sich durch „a very thick body-wall" oder „a thick gelatinous wall" auszeichneten.

Zwar ist es nicht ausgeschlossen, daß gewisse Besonderheiten der Struktnrverhältnisse in dem einen oder anderen Falle auf die voranfgegangene Behandlnng des Materials zurückzuführen sind, doch glanbe ich nicht annehmen zu sollen, daß der Unterschied der Vorbehandlnng für alle bestehenden Abweichungen verantwortlich zu machen ist.

Es kommt auch weiter noch hinzu, daß mir gerade aus demjenigen Planktonzng, der die reichste Ausbeute an den oben beschriebenen kugeligen Blasen lieferte, nicht ein einziges Skelet von *Nationaletta fragilis* vorliegt, ja daß, soweit ich heute übersehen kann, kanm in einem Fang beide Bildungen zusammen gefunden wurden. Allerdings — nnd das muß betont werden — erhielt ich von den betreffenden Orten anch keine anderen Skeletgebilde, die zn der neuen Form gehören könnten.

Nach alle diesem hat es den Anschein, daß eine bisher nicht beobachtete skeletlose Tripyleenart vorliegt, die einer neuen Gattung zugeteilt werden müßte. Sollte sich diese Annahme dnrch die Untersnchnng weiterer Funde bestätigen, so könnte die nene Gattung vielleicht passend als *Globicella*, die hier beschriebene Art als *Globicella pila* bezeichnet werden. Sollten wir es dagegen — was ich kaum annehmen möchte — dennoch mit isolierten Centralkapseln von *Nationaletta* zu tun haben, so werden auch in diesem Falle die vorstehenden Ausführungen und die genaueren Abbildungen als Ergänzung der früheren Angaben willkommen sein.

Hinsichtlich der Frage nach der systematischen Stellnng des neuen Genus kann man wohl kaum darüber im Zweifel sein, daß nähere verwandtschaftliche Beziehungen einerseits zu den Atlanticellen bestehen, daß andererseits aber auch gewisse Eigentümlichkeiten — besonders das Vorhandensein zahlreicher Öffnungen — deutlich nach der Richtung der Nationaletten weisen.[1]) Ich habe mich über die Beziehungen der letztgenannten Formen zu einander

[1]) Es wäre verfrüht nnd daher müßig, schon jetzt die Frage in dem einen oder anderen Sinne entscheiden zu wollen; hierzu bedarf es, wie aus dem Gesagten hervorgeht, noch der Untersnchnng weiteren geeigneten Materials. Jedenfalls aber könnte nns das Vorhandensein mehrerer Öffnungen bei *Globicella* nicht abhalten, die Gattnng im System mit den nur eine Hauptöffnnng besitzeuden Atlanticellen, Halocellen nsw. zu vereinigen, wie ja anch die Nationaletten nnd Planktonetten mit ihren vielen Öffnungen — bis jetzt wenigstens — als Angehörige der ebenfalls offenbar in diesem Punkte meistens abweichend organisierten Arten aus der Familie der Medusettiden erscheinen.

schon früher geäußert und werde weiter unten Gelegenheit nehmen, noch einmal auf den Gegenstand zurückzukommen.

Bezüglich der Öffnungen in der Kapselmembran haben die neueren Untersuchungen gezeigt, daß bei den Tripyleen eine weit größere Mannigfaltigkeit besteht, als die älteren Forschungen vermuten ließen. Nicht nur sehen wir die Parapylen hier und da ganz in Wegfall kommen, sondern wir beobachten andererseits auch, wie dieselben gelegentlich ihre typische Lage an der aboralen Seite der Centralkapsel aufgeben und in die Nähe der Hauptöffnung auf die orale Hälfte der Centralkapsel hinübertreten. Ein solches Verhalten glaube ich beispielsweise bei der Gattung *Gazelletta* nachgewiesen zu haben.[1]) Fig. 10 zeigt hier die beiden Nebenöffnungen am Rande der oralen Fläche, wo diese sich nach der aboralen Seite umwölbt, an einander

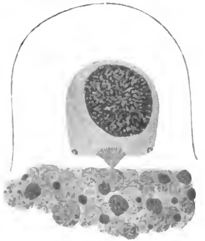


Fig. 10.
Gazelletta sp. Centralkapsel und Phäodium. Die Lage der Schale ist durch eine einfache Linie angedeutet. Vergr. 500 fach.

entgegengesetzten Seiten neben der kegelförmigen Hauptöffnung. Allerdings habe ich nur einen derartigen Fall beobachtet, in welchem die Centralkapsel zufällig eine günstige Lage für die Beobachtung hatte. Da aber Vacuolen sonst nicht zu sehen waren

[1]) Vgl. A. Borgert: *Medusettidae* p. 140.

und nur mit diesen eine Verwechslung möglich erschien, so halte ich bei der gleichen Größe und der vollkommen symmetrischen Lage der Bildungen unmittelbar an der Peripherie der Centralkapsel einen Irrtum nicht für wahrscheinlich. Immerhin wäre noch eine Nachprüfung der Frage an Schnittpräparaten, die mir leider wegen Mangels an geeignetem Untersuchungsmaterial nicht möglich war, sehr erwünscht.

Daß ferner eine Verdoppelung der Hauptöffnungen vorkommen kann, wies V. Haecker [1]) an *Challengeria naresi* J. Murray nach, bei der zwei symmetrisch gelegene, weit auseinander gerückte Astropylen an der oralen Seite der Centralkapsel entwickelt sind, während die beiden Parapylen ihre Lage an der aboralen Fläche bewahrt haben, aber relativ dicht zusammengelagert erscheinen.

Wesentlich weiter getrieben ist die Vermehrung der Astropylen bei den Gattungen *Planktonetta* und *Nationaletta*, die in dieser Beziehung untereinander ganz ähnliche Verhältnisse zeigen, [2]) ebenso auch bei dem neuen Genus *Globicella*. Hier ist die orale Fläche der Centralkapsel, soweit (an konservierten Exemplaren) die dichte Protoplasmaansammlung um den Kern reicht, mit zahlreichen Öffnungen besetzt, die den Bau kleiner Astropylen besitzen. Fig. 7 zeigt die Verteilung der Öffnungen an einem medianen Längsschnitt durch eine *Globicella*. In Fig. 8 sind eine Anzahl Öffnungen an einem tangentialen Schnitt vom oralen Pol in der Flächenansicht dargestellt.

Bei keiner der letztgenannten Formen wurden außerdem noch besondere Nebenöffnungen gefunden.

Was die Unterbringung der neuen Gattungen im System der Tripyleen betrifft, so kann ich mich hier wohl im wesentlichen auf das Gesagte beschränken, dagegen veranlassen mich die Ausführungen V. Haecker's in seiner siebenten Mitteilung über die Radiolarien der „Valdivia“-Ausbeute noch einmal etwas näher auf die Frage nach der systematischen Stellung der Familie der *Atlanticellidae* einzugehen.

V. Haecker ist der Ansicht, daß es nicht angebracht sei, die

[1]) V. Haecker: Zur Kenntnis der Challengeriden. Vierte Mitteilung über die Tripyleen-Ausbeute der deutschen Tiefsee-Expedition. In: Arch. f. Protistenk. Bd. VII 1906.

[2]) Vgl. A. Borgert: *Medusettidae* p. 140 ff. und V. Haecker: Siebente Mitteilung p. 891 ff.

Atlanticelliden von den Medusettiden abzutrennen,[1]) da in den beiden Familien sich eine kontinuierliche Reihe von Arten darbiete, „welche von den kleinen, einfach gebauten, Challengeriden-ähnlichen Formen zu den hochspezialisierten Planktonetten, Nationaletten und Atlanticellen führt“.

Daß nahe Beziehungen zwischen Medusettiden und Atlanticelliden bestehen, ist auch meine Ansicht, und ich habe diese Auffassung schon in meiner Bearbeitung der letztgenannten Familie betont. Ich habe dort nachdrücklich auf die Ähnlichkeit der allgemeinen Organisationsverhältnisse hingewiesen, die die Atlanticellen den Arten der Gattungen *Planktonetta* und *Nationaletta* besonders nahestehend erscheinen lassen.

Dennoch sah ich mich veranlaßt, die Atlanticellen einer besonderen Familie zuzuteilen. Dabei habe ich den Fall in Erwägung gezogen, daß man bei der Trennung vielleicht auch die Scheidung derartig ausführen könnte, daß die Genera *Planktonetta* und *Nationaletta* mit der Gattung *Atlanticella* in der neubegründeten Familie vereinigt würden.

An der Ansicht, daß an dem einen oder anderen Punkte eine Trennung geschehen müsse, hat auch die eingehendere Beschäftigung mit den Medusettiden der Plankton-Expedition, deren Bearbeitung inzwischen erschienen ist, nichts geändert; im Gegenteil, die weiteren Untersuchungen haben mich in meiner Auffassung nur bestärkt.

Werfen wir noch einmal unter Berücksichtigung der neueren Befunde einen Blick auf die Organisationsverhältnisse der beiden einander am nächsten stehenden Genera, nämlich der Gattungen *Nationaletta* und *Atlanticella*, so zeigt sich, daß bei aller Ähnlichkeit die Übereinstimmung offenbar keine so weitgehende ist, wie V. Haecker anzunehmen scheint.

Bei dem Genus *Nationaletta*, dem sich in diesem Punkte die Gattung *Planktonetta* ganz ähnlich verhält,[2]) sehen wir die blasig aufgetriebene Centralkapsel mit zahlreichen kleinen Astropylen ausgestattet und ferner als Verstärkung der Membran am oralen Pole

[1]) Nebenbei sei hier bemerkt, daß Haecker in dem Material der Tiefsee-Expedition zwei neue *Atlanticella*-Species fand, die hinsichtlich der Stachelzahl von den Arten des „National“ abweichen. Die Angabe Haecker's, daß die letzteren acht Stacheln besitzen, ist auf *Atlanticella planktonica* zu beschränken, da *Atlanticella craspedota* deren nur vier besitzt.

[2]) Die Übereinstimmung in den Organisationsverhältnissen dieser zwei Gattungen und die bestehenden Abweichungen von den übrigen Medusettiden veranlaßten mich, die genannten beiden Genera in einer besonderen Subfamilie (*Planktonettidae*) zu vereinigen.

ein derbes geschichtetes „Diaphragma“ entwickelt. Auf der anderen Seite vermissen wir bei *Atlanticella* dagegen das Diaphragma völlig und finden außerdem statt der vielen zerstreut stehenden Öffnungen nur eine einzige centrale Astropyle mit großem radiär gestreiftem Öffnungshof entwickelt. Und, was außerdem und vor allem das charakteristischste Merkmal aller typischen Medusettiden betrifft: die Kammerung der Stacheln, so weist *Atlanticella* einen Bau dieser Gebilde auf, wie er sich bei keiner Medusettidenart ähnlich wiederfände.

Ohnehin umfaßt schon die Familie der Medusettiden außerordentlich verschieden organisierte Formen; man vergleiche beispielsweise eine der kleinen *Euphysetta*- oder *Medusetta*-Arten mit den großen kompliziert gebauten Nationaletten oder Planktonetten.

In dem einen Falle: Geringe Größe des Tieres. Die rundliche kleine Centralkapsel, die mit einer einzigen Hauptöffnung versehen ist — ob Nebenöffnungen vorhanden sind, ist noch nicht sicher festgestellt — liegt im aboralen Teil des Schalenhohlraumes, während das Phäodium die orale Hälfte des Skelets erfüllt. Ein Diaphragma fehlt diesen Formen vollkommen. Die Schalenwandung zeigt eine feine Felderung. — Auf der anderen Seite: Wesentlich bedeutendere Größe des Organismus. Die Centralkapsel stellt eine mächtige Blase dar, die bei *Planktonetta* den Schalenhohlraum völlig ausfüllt, bei *Nationaletta* einer äußeren Umhüllung durch die Schale überhaupt entbehrt und deren orale Seite nur durch Kern und Endoplasma eingenommen wird. Statt der einen Astropyle sind zahlreiche kleine Hauptöffnungen entwickelt. Vor der oralen Fläche spannt sich ein derbes faseriges Diaphragma aus. Das Phäodium liegt bei *Planktonetta* außerhalb der Schale, bei *Nationaletta* ist es von dem als kappenförmige Bildung der Centralkapsel angelagerten Skelet umhüllt. Bei *Planktonetta* fehlt auch die Felderung der Schalenwandung, außerdem kommt hier als besondere Bildung noch das „Floß“ hinzu.

Aber so verschieden auch im übrigen Weichkörper und Skelet bei den zu der Familie der Medusettiden gestellten Arten sein mögen, so erscheinen doch diese Formen alle noch durch die besondere Bauart ihrer Schalenfortsätze, der Oralstacheln, wie sie sich unter den Tripyleen sonst nirgends wiederfindet, in nähere Beziehung zu einander gebracht, und es sind, wo sonstige Abweichungen irgendwelcher Art bestehen, doch eventuell Übergänge vorhanden, die diese Formen unter einander verbinden.

Anders steht es aber mit den Atlanticellen. Wollten wir diese mit in die Familie einreihen, so würde dies nur mit einem gewissen

Zwang geschehen können, und gerade auf das charakteristischste Merkmal der Medusettiden müßten wir verzichten.

Da wäre es vielleicht noch natürlicher, von den kleinen, einfacher organisierten Medusettidenformen aus, wie sie die Gattungen *Euphysetta* und *Medusetta* aufweisen, die Reihe durch den Anschluß der Challengeriden in dieser Richtung weiter fortzuführen. Jedenfalls wäre nach der letzteren Seite hin ein Übergang mindestens ebenso leicht und einfach zu finden, wie zu den abweichenden Atlanticelliden, mit denen V. Haecker diese Formen in einer Familie vereinigt sehen will.

Schon die Form des Skelets ist bei den Euphysetten und manchen Medusetten so ähnlich derjenigen der Challengeriden, daß tatsächlich mehrfach bereits Medusettiden als Challengeriden in der Literatur aufgeführt worden sind. Dazu kommt die Übereinstimmung in der Ausbildung des Weichkörpers, die Ähnlichkeit in Gestalt und Bau der Centralkapsel und ihre Lage im aboralen Teile der Schale, dann die gleiche Aufspeicherung des Phäodiums im oralen Abschnitt des Skelethohlraumes. Die Verschiedenheit in der Schalenstruktur wäre gering, auf jeden Fall viel geringer, als sie unter gewissen Angehörigen der Familie der Medusettiden ist; und, wollte man noch weiter gehen, so könnte man in der Ausbildung von Scheidewänden in dem Stachelhohlraum mancher Challengeriden auch noch Anklänge an die Kammerung der Medusettidenstacheln erblicken.

Natürlich ist es nicht meine Absicht, eine Vereinigung der beiden Familien befürworten zu wollen, denn die Challengeriden bilden in der Tat eine viel zu wohl charakterisierte, in sich abgeschlossene Gruppe unter den Tripyleen, als daß es angezeigt erscheinen könnte, sie mit der einen oder anderen Abteilung zu verschmelzen. Aber ich würde es für ebensowenig richtig halten, die Atlanticelliden mit den Euphysetten und Medusetten in eine und dieselbe Familie zu stellen.

Und nun kommen noch die oben beschriebenen neuen Formen hinzu, die zweifellos mit den Atlanticelliden nahe verwandt und deswegen von mir bei diesen untergebracht, keinerlei Berührungspunkte mit den typischen Vertretern der Medusettidenfamilie zeigen.

Im Hinblick auf diese neuen Gattungen scheint mir, soweit ich nach meinem Material urteilen kann, die von Haecker vorgeschlagene Vereinigung der beiden Familien der Atlanticelliden und Medusettiden besonders untunlich. Ich halte es deswegen auch für richtiger, hier weiterhin eine Trennung bestehen zu lassen.

Zum Schluß noch einige Worte über das Genus *Nationaletta.*

Nach V. HAECKER's Ansicht ist FOWLER's *Gazelletta fragilis*[1]) nicht identisch mit der von mir beschriebenen *Nationaletta fragilis,*[2]) vielmehr soll die mit dem ersteren Namen belegte Art nach HAECKER mit *Planktonetta atlantica* nahe verwandt und demnach dieser Gattung einzureihen sein. HAECKER weist dabei auf das Vorhandensein des Porenkranzes an der Basis der Schalenwölbung bei FOWLER's *Gazelletta fragilis* hin, und weiter erwähnt er, daß er in einem Falle auch ein typisches „Floß" entwickelt fand.

Zu dieser Frage möchte ich bemerken, daß ich in Übereinstimmung mit FOWLER die beiden Species für identisch halte, wie dies auch aus meiner Bearbeitung der Medusettiden ersichtlich ist. Unter dieser Voraussetzung, daß nämlich FOWLER eine schon früher von mir[3]) aus dem Material der Plankton-Expedition als *Gazelletta fragilis* beschriebene Form vorgelegen habe, gab ich dem neuen Genus nachträglich, als ich mich von der Notwendigkeit einer Trennung überzeugt sah, den Namen *Nationaletta.*

Aus verschiedenen Gründen glaube ich, daß in dem vorliegenden Falle wirklich Identität der Arten besteht. Auch FOWLER sah bei seinen Exemplaren einen Kranz von Poren an der Basis der Schalenwölbung, und demnach würde in dieser Beziehung keine Abweichung, wie HAECKER meint, bestehen.[4]) Dazu kommt, daß ich bei den mir vorliegenden Stücken die Schale stets allein mit Phäodellen angefüllt fand, und daß es mir nie gelang, eine Centralkapsel in dem Hohlraum aufzufinden. Dies brachte mich auf die Vermutung, daß sich bei meinen Exemplaren überall ein Teil des Tieres abgetrennt habe, der diesen wichtigsten Bestandteil des Weichkörpers umschloß, und so schien mir FOWLER's Beobachtung, daß bei vollständigen Exemplaren eine den Kern umschließende Blase dem Skelet lose angefügt sei, die gesuchte Aufklärung zu bringen. Es müßte auch überraschen, wenn FOWLER's Art nicht ebenfalls von der Plankton-Expedition erbeutet sein sollte; allerdings wäre es ebenso merkwürdig, wenn —

[1]) Vgl. G. H. FOWLER: Notes on the anatomy of *Gazelletta.* In: Quarterly Journal of Microscopical Science Vol. 48 Part III 1904.

[2]) A. BORGERT: *Medusettidae* p. 160.

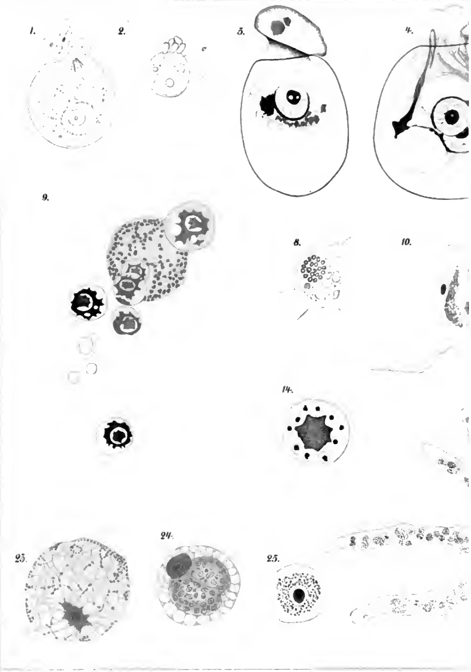
[3]) A. BORGERT: Mitteilungen über die Tripyleen-Ausbeute der Plankton-Expedition. I. Neue *Medusettidae, Circoporidae* und *Tuscaroridae.* In: Zool. Jahrb. Bd. 16 Syst. 1902.

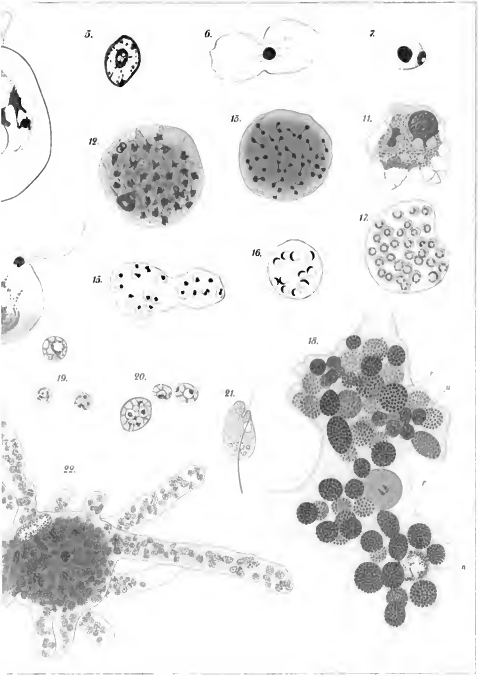
[4]) An den mir von Herrn Dr. FOWLER freundlichst zur Verfügung gestellten Exemplaren konnte ich leider diesen Punkt nicht aufklären, da die Gehäuse dicht mit Phäodium erfüllt waren und Einzelheiten des Schalenbaues sich nicht erkennen ließen.

die Zugehörigkeit meiner Exemplare zur Gattung *Nationaletta* vorausgesetzt — sich nicht eine einzige der losgelösten blasenförmigen Centralkapseln in dem Material des „National" gefunden hätte.

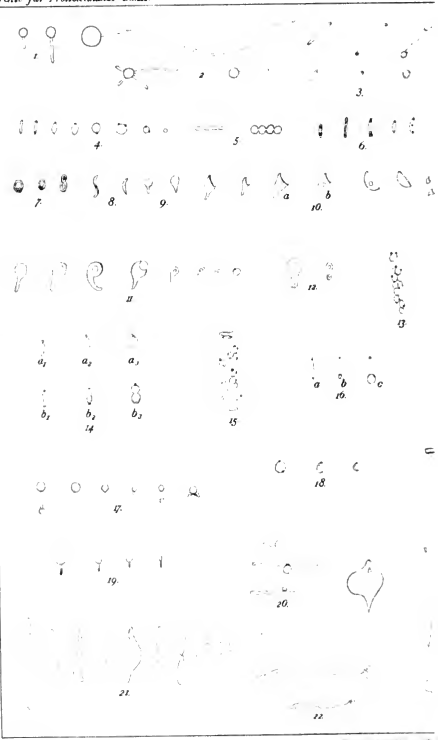
Sollte sich aber wider Erwarten doch herausstellen, daß in diesem Falle zwei Arten aus verschiedenen Gattungen unter einem Namen vereinigt sind, so würden die in meinem Bericht über die Medusettiden der Plankton-Expedition für *Nationaletta fragilis* nach dem Material des „National" aufgeführten Fundorte einer besonderen, im Atlantischen Ozean weit verbreiteten Species zukommen, die bis auf weiteres die ursprüngliche Bezeichnung *Gazelletta fragilis* weiterzuführen hätte, und nur die nach Fowler's Bericht mit aufgenommene, dem Golf von Biscaya angehörende Fundstelle hätte auf *Nationaletta fragilis* Bezug.

Lippert & Co. (G. Pätz'sche Buchdruckerei), Naumburg a. S.


1.
2.
3.
4.
9.
8.
10.
14.
23.
24.
25.

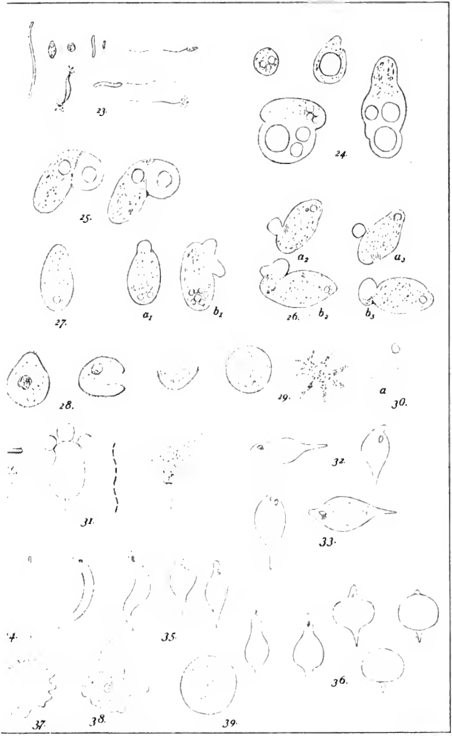


Fischer

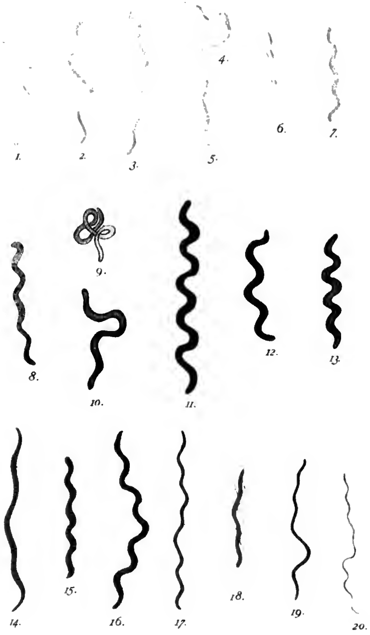


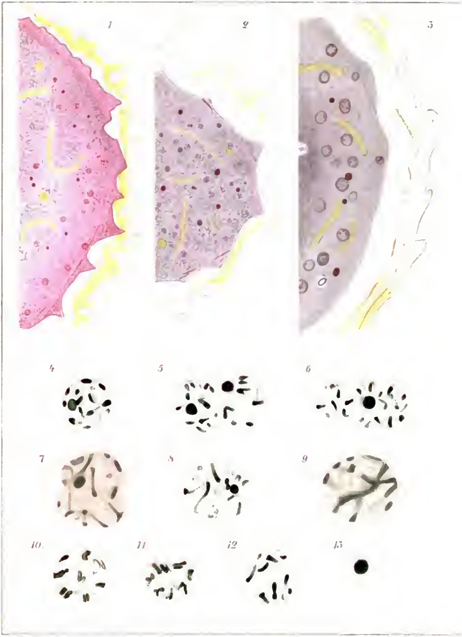
Garbowski del.

Verlag von Gus



v Fischer, Jena.
P. Weise, Lith., Jena.

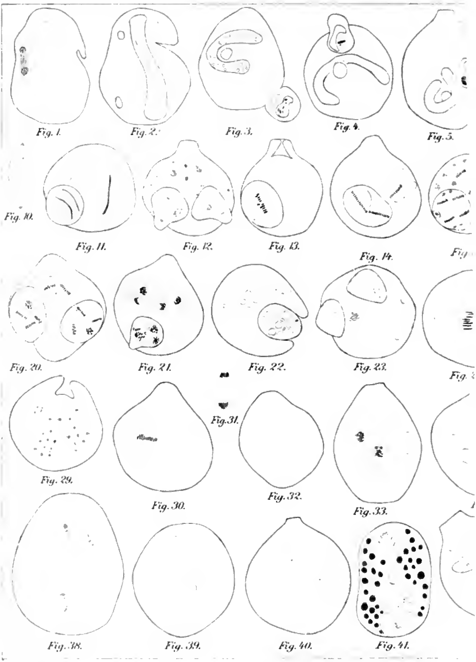

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.
11.
12.
13.
14.
15.
16.
17.
18.
19.
20.


1
2
3
4
5
6
7
8
9
10.
11
12
13

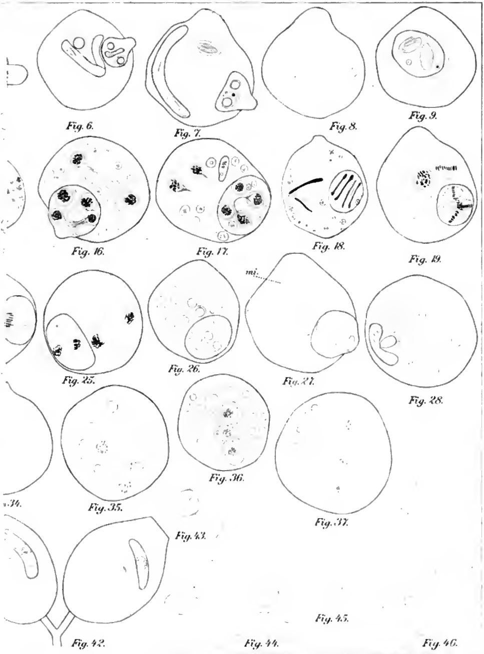


scher in Jena

Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena


Fig. 1.
Fig. 2.
Fig. 3.
Fig. 4.
Fig. 5.
Fig. 10.
Fig. 11.
Fig. 12.
Fig. 13.
Fig. 14.
Fig. 20.
Fig. 21.
Fig. 22.
Fig. 23.
Fig. 29.
Fig. 30.
Fig. 31.
Fig. 32.
Fig. 33.
Fig. 38.
Fig. 39.
Fig. 40.
Fig. 41.

Verlag v. Gus



Fischer, Jena.



Fig. 47. Fig. 48. Fig. 49. Fig. 50. Fig. 51. Fig. 54. Fig. 55. Fig. 56. Fig. 61. Fig. 62. Fig. 63. Fig. 64

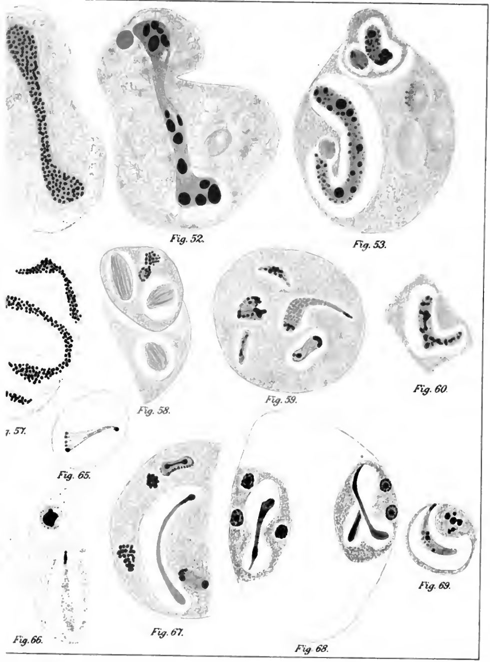
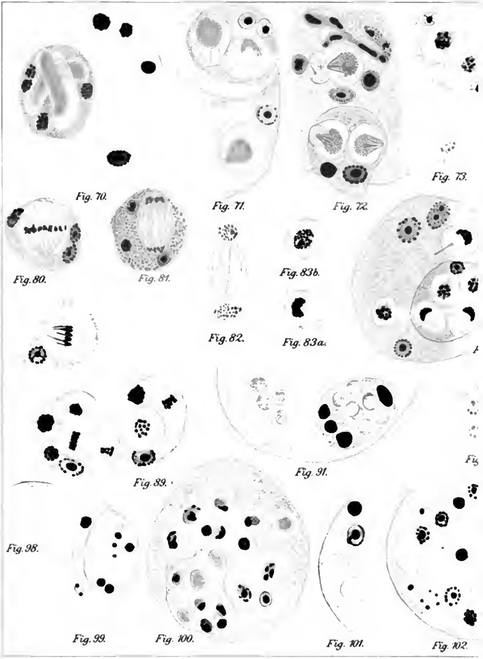
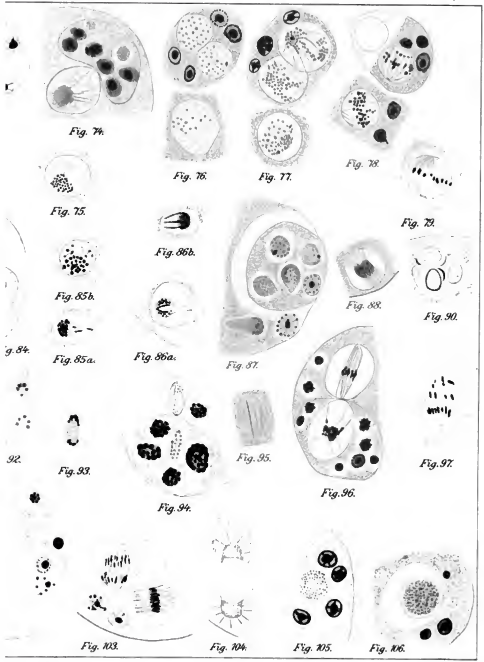


Fig. 52. Fig. 53. Fig. 57. Fig. 58. Fig. 59. Fig. 60. Fig. 65. Fig. 66. Fig. 67. Fig. 68. Fig. 69.

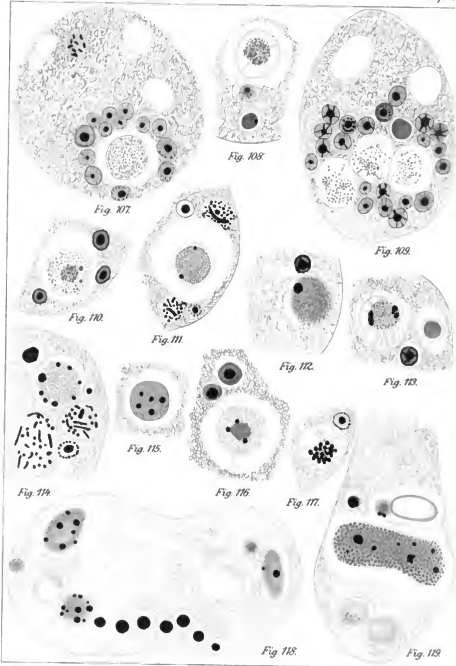
Fischer, Jena



Verlag v. Gustav



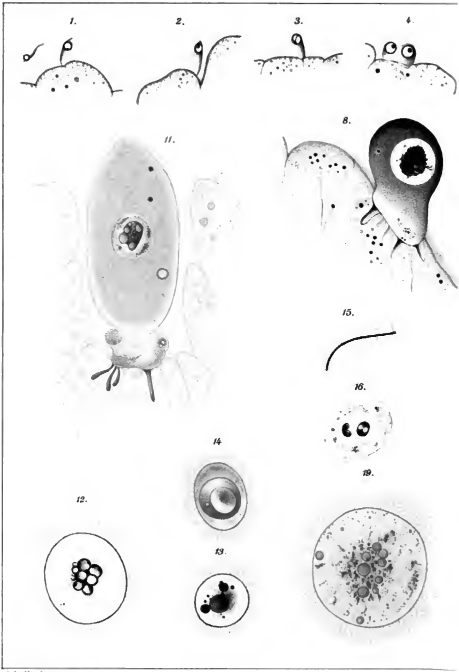
Fischer, Jena



Enriques gez.

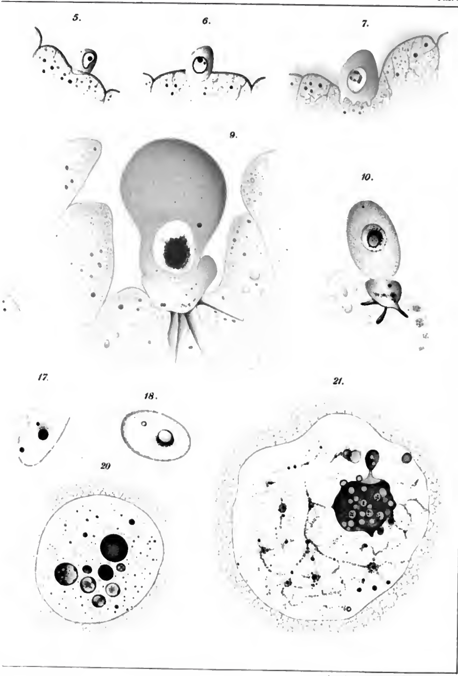
Verlag v Gustav Fischer, Jena

Lith Anst v E Wesser, Jena

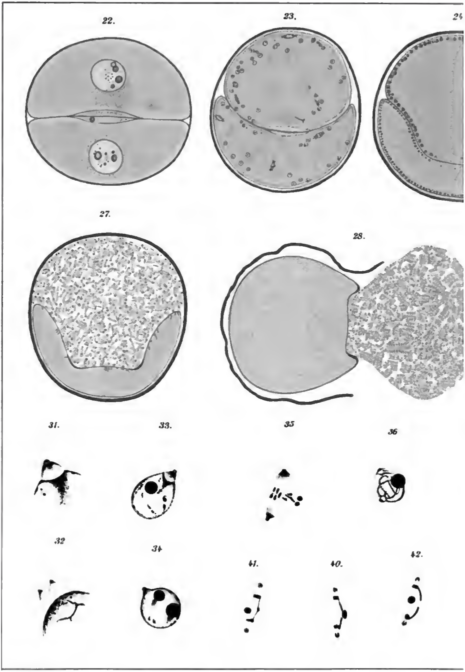


Schellack gez

Verl. v. Gustav

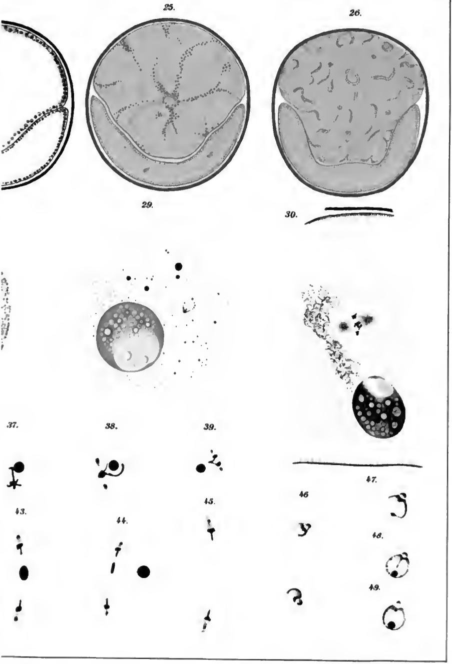


Fischer, Jena.

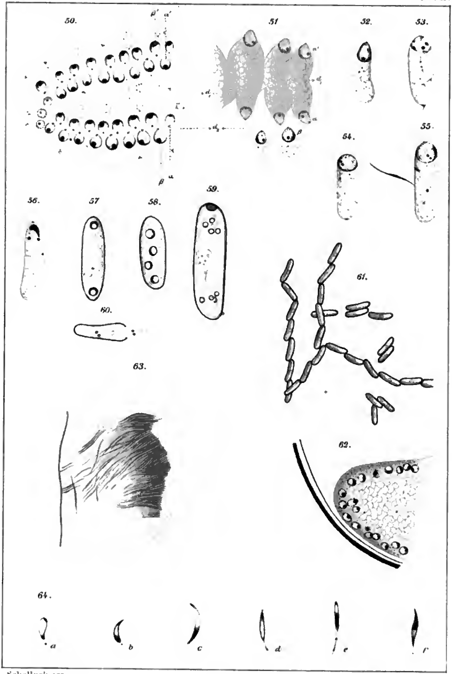


Schellack gez.

Verl. v Gustav Fi

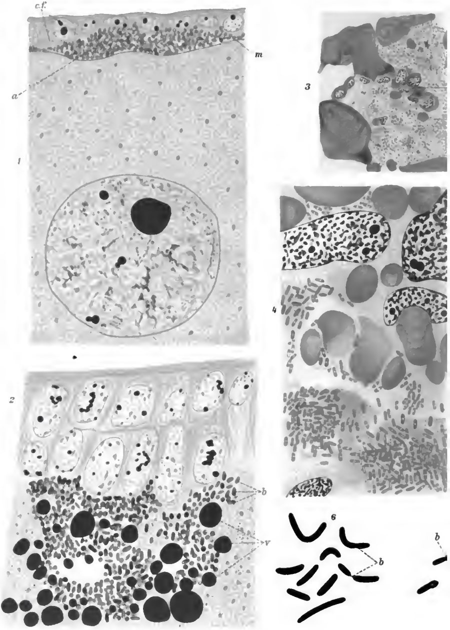


her, Jena



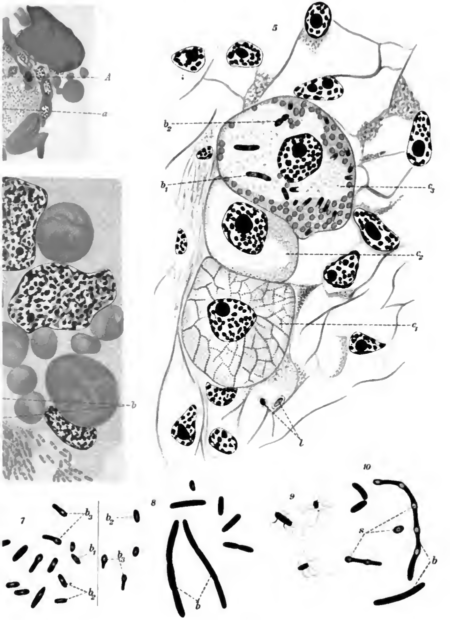
Schellack gez

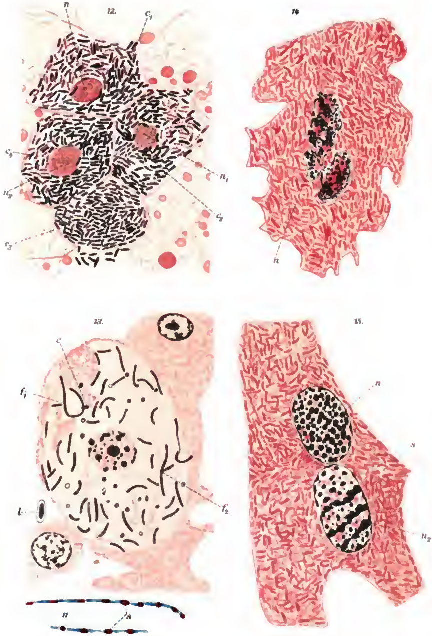
Verl. v Gustav Fischer, Jena



L. Mercier del.

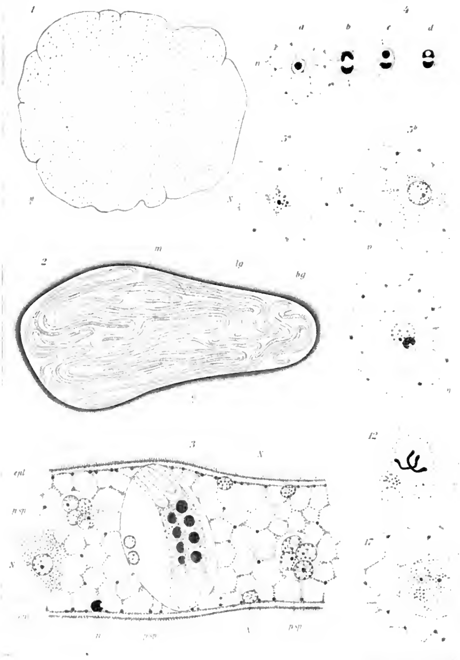
Verl. v. Gustav

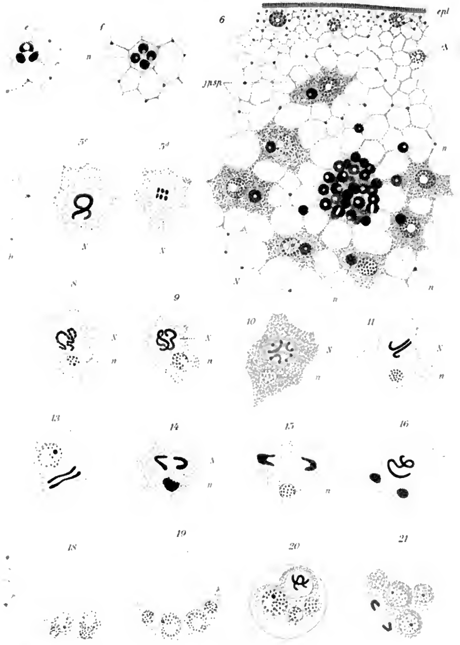

A
a
5
b2
b1
c3
c2
c1
b
l
10
7
b3
b1
b2
8
b
9
s
b

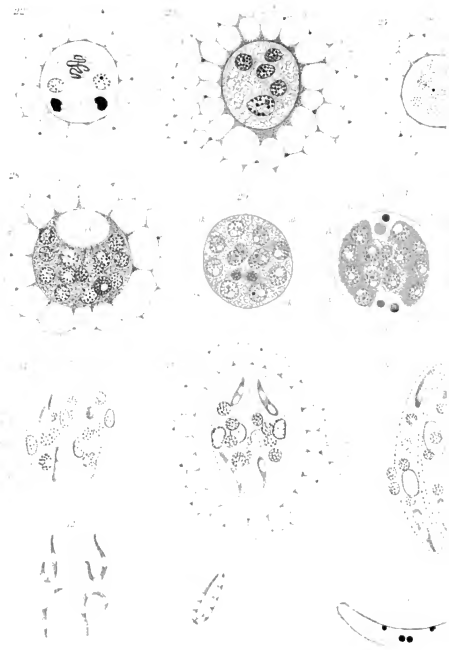


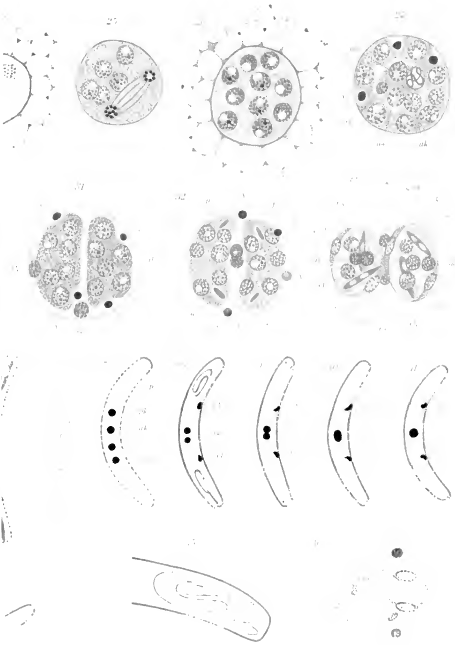
L. Mercier del.

Verl. v Gustav Fischer, Jena

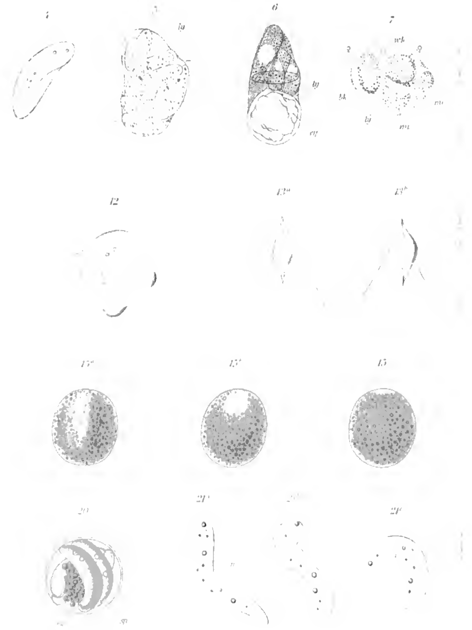

1
4
a
b
c
d
2
m
lg
bg
3
N
epl
n
psp
12
17













Taf. 17.

